

Posterabstracts

Samenvattingen van de posterpresentaties tijdens het 67e Congres van de Nederlandse Vereniging voor Klinische Chemie en Laboratoriumgeneeskunde op 10 en 11 april 2014 te Veldhoven

Categorie 1 Analytisch

Immunoassay, (bloedgroepen-)serologie

1. Duplicatie van het gen dat codeert voor de Duffy bloedgroep bij een patiënt met MDS

J.H. KLINKSPOOR¹, C.C. FOLMAN², S.S. ZEERLEDER³

Academisch Medisch Centrum¹, Laboratorium Algemene Klinische Chemie, Amsterdam, Sanquin², Lab. Erythrocytenserologie, Amsterdam, Academisch Medisch Centrum³, Klinische Hematologie, Amsterdam

Inleiding: Bij een 67-jarige man wordt, op basis van een sterk afwijkende karyotypering, een hoog risico MDS vastgesteld. Vanwege het risico op transformatie naar een AML, komt de patiënt in aanmerking voor een allogene stamceltransplantatie. In het kader van pretransplantatieonderzoek wordt een Rh, Kell, Kidd en Duffy (FY) bloedgroepentypering aangevraagd. Vanwege recente transfusies is genotypering van de bloedgroepen noodzakelijk.

Methode: Bloedgroep genotypering wordt uitgevoerd d.m.v. multiplex PCR (MLPA) op DNA geïsoleerd uit leukocyten.

Resultaat: Uit de genotypering blijkt dat er 3 kopieën van het FY gen aanwezig zijn, 1x FYA en 2x FYB. Hierdoor is het Duffy fenotype niet met zekerheid vast te stellen. Bij de andere drie bloedgroepen worden geen bijzonderheden gevonden. Bij de karyotypering van het beenmerg werden de volgende afwijkingen geconstateerd. Op het 1q chromosoom worden

meerdere kopieën gevonden van de 1q21-q32 regio. In een andere cellijn wordt een extra aanwezigheid van 1q gevonden, in de vorm van een translocatie met 7q. Ook is er sprake van trisomie 8. De verklaring voor de verdubbeling van FYB ligt in het karyotype van de patiënt. Het gen dat codeert voor Duffy ligt op 1q22-q23, precies in het gebied waar bij de patiënt een duplicatie is aangetoond. Om toch de bloedgroep te kunnen bepalen, wordt genotypering verricht met DNA uit wangslim. Hierin wordt slechts 1 kopie van zowel FYA als FYB gevonden en kan het fenotype worden vastgesteld op Fy(a+b+).

Conclusie: Ten gevolge van een duplicatie van het 1q21-q32 gebied bij een MDS, heeft in de leukocyten van de patiënt een verdubbeling van het gen van de Fy(b) bloedgroep plaatsgevonden. Op basis van DNA uit wangslim kan het fenotype uiteindelijk worden vastgesteld als Fy(a+b+).

Fotometrie, electrochemie, sensortechnologie

2. HLA-DQ2/8 typering met de EUROArray

K. van der WEIDE, J. van der WEIDE

Ziekenhuis St. Jansdal, Klinisch Chemisch Laboratorium, Harderwijk

Inleiding: In 2012 zijn de nieuwe ESPGHAN-richtlijnen voor coeliakie bij kinderen gepubliceerd. In deze richtlijnen speelt de HLA-DQ2/8 typering een belangrijke rol: bij kinderen met symptomen met een sterk verhoogd TG2A en een positieve EMA dient de HLA-DQ2/8 typering ter bevestiging van de diagnose en is geen biopsie noodzakelijk. Bij kinderen zonder klachten maar met een verhoogd risico op coeliakie kan de HLA-DQ2/8 typering gebruikt worden om coeliakie uit te sluiten. Vooralsnog werd de analyse door ons uitbesteed, maar omdat als gevolg van de nieuwe richtlijnen het aantal HLA-DQ2/8 aanvragen sterk is toegenomen, is besloten de analyse zelf uit te voeren met de EUROArray (Biognost/EUROIMMUN).

Methode: We hebben uitslagen verkregen met de EUROArray vergeleken met bekende uitslagen (Sanquin). De EUROArray methode stelt de aanwezigheid van de haplotypen DQ2.2 en DQ2.5 en het antigeen DQ8 vast door middel van een microarray. Van DQ2.2 is recent bekend dat het geassocieerd is met

coeliakie en wordt door slechts enkele laboratoria meegenomen in de analyse.

Resultaat: Van alle 21 patiënten kwamen de uitslagen overeen met reeds bekende uitslagen: 6 patiënten waren negatief voor DQ2 en DQ8, 8 patiënten hadden DQ2.5, 5 hadden DQ2.2 en 6 waren positief voor DQ8. Van deze patiënten waren er 3 positief voor zowel DQ2.5 als DQ2.2 en 1 patiënt had DQ2.2 en DQ8. Hands-on tijd voor de assay is -exclusief DNA isolatie- maximaal 45 minuten; resultaten zijn binnen 3 uur gegenereerd.

Conclusie: De EUROArray HLA-DQ2/8 is een snelle methode waarmee voor een concurrerende prijs getest kan worden op aanwezigheid van DQ2.2, DQ2.5 en DQ8, en geeft resultaten die identiek zijn aan uitslagen van Sanquin.

Literatuur: Mubarak et al. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2013; 56: 428-430.

3. SHBG deficiency due to a homozygous missense mutation

M.J. VOS¹, G.S. MIJNHOUT², J.M.M. RONDEEL¹, W. BARON³, P.H.P. GROENEVELD²

Department of Clinical Chemistry¹ and Department of Internal Medicine², Isala, Zwolle, The Netherlands, Department of Cell Biology³, University of Groningen, UMCG, Groningen, The Netherlands

Introduction: Sex hormone binding globulin (SHBG) is the major sex steroid transport protein in plasma and regulates the bioavailability of testosterone required for androgenic effects on target tissues. Recent research suggests a more intricate role of the testosterone-SHBG complex. Whereas SHBG has long been classified as a sole binding- and transport protein for sex steroids, intracellular signaling through binding of the testosterone-SHBG complex to its cellular receptor has recently changed this classical paradigm.

Methods: DNA sequencing and cellular studies.

Results: We have identified a family with a missense mutation within the SHBG gene, which in the homozygous state results in a complete plasma SHBG deficiency. We show that the missense mutation results in an accumulation of the mutant SHBG within the cell and failure to secrete the mutant protein. The male proband, 27 years old, presented with a seven-year history of muscle weakness, low body weight, fatigue, low libido

and decreased spontaneous morning erections. In addition, we identified a female sibling also homozygous for the SHBG mutation and deficient for plasma SHBG. She, however, only had relatively mild symptoms. Interestingly, both adults which lack plasma SHBG, proceeded successfully through puberty and have no indication of reduced fertility in the absence of SHBG. However, the proband presented with several clinical symptoms which may meet the criteria for hypogonadism including low testosterone and reduced libido. The female presented with irregular menstrual periods without signs of hyperandrogenism or hirsutism.

Conclusion: These results suggest only a marginal role of SHBG in sexual maturation and reproductive function. However, SHBG seems essential for normal androgenic effects on adult male physiology, with a speculative role for the SHBG-receptor signaling pathway.

4. Analytic performance of a new direct whole blood assay for hemoglobin A1c on the ARCHITECT c8000 system.

M.J.W. JANSSEN¹, J. MOLLS¹, Y.T.E. SPUNDA - THEUNISSEN¹, B.H.E. HENDRICKX¹, M.H. VELMANS¹

Laboratory of clinical chemistry and hematology¹, Viecuri Medical Centre, Venlo, The Netherlands

Introduction: Use of hemoglobin A1c (HbA1c) for diagnosing and monitoring diabetes mellitus requires an accurate, precise and robust measurement system. With ARCHITECT HbA1c a method is available for the direct automated testing of whole blood on the ARCHITECT c8000 system. The assay uses on-board hemolysis followed by enzymatic measurement of HbA1c. We performed a study to evaluate the analytical performance characteristics of this assay.

Methods: Assay precision and the robustness of the assay to pre-analytical factors like hematocrit level and prolonged erythrocyte sedimentation were checked during the evaluation period. Traceability of the results to the IFCC reference method values was verified and comparison to a HPLC routine method was checked.

Results: The total %CV from a two-level imprecision study

using commercial control material and patient whole blood samples ranged from 0.6% to 1.3%. Changing hematocrit (Ht) levels in the range 0.15-0.69 caused 4.0% higher assay results in the low Ht range and 1.6% lower results in the high Ht range. Prolonged erythrocyte sedimentation up to 6 hours showed on average 2.0% higher assay results (n=5). Method comparison between ARCHITECT and Menarini HA8160 HPLC using whole blood samples (n=130) revealed constant bias (intercept = -4.4 mmol/mol). However, average bias to IFCC reference method was 1.1 mmol/mol for the ARCHITECT HbA1c method and 2.4 mmol/mol for the HPLC method.

Conclusion: The new ARCHITECT HbA1c is a robust fully automated direct method allowing the accurate and precise measurement of HbA1c on the ARCHITECT c8000 instrument.

5. De LDL-cholesterol bepaling: beter gemeten

R. IMAMDI, E.H. JENINGA, M.A.C.M. BRAKENHOFF, H.R.V.J. WALDT, I.A. HAAGEN

Onze Lieve Vrouwe Gasthuis, Hematologisch Klinisch Chemisch Laboratorium, Amsterdam

Inleiding: Laboratoriumonderzoek bij cardiovasculair risicomanagement (CVRM) wordt onder andere aangevraagd ten behoeve van de medicamenteuze behandeling. LDL-C wordt driemaandelijks bepaald tot de streefwaarde bereikt is. LDL-C kan (1) indirect bepaald worden via de berekening met de formule van Friedewald (LDL-C = tot chol - HDL-C -0,45 x triglyceridenconcentratie). De nadelen zijn de extra bepalingen (totaal cholesterol en HDL-C) en de formule is alleen geldig bij een triglyceride van <4,5 mmol/l. Deze 4,5 mmol/l varieert per lab tussen de 2 tot 8 mmol/l. Daarnaast kan de LDL-C (2) direct bepaald worden. Grote voordelen hierbij zijn dat er geen aanvullende bepalingen nodig zijn en niet afhankelijk is van de triglycerideconcentratie, patiënt hoeft niet nuchter te zijn.

Methode: Ten eerste is vastgesteld tot welke concentratie triglyceride de Friedewaldformule nog betrouwbaar te gebruiken is. Hier voor is de LDL-C berekend in 88 patiëntenmonsters met een triglycerideconcentratie tussen de 0,61 mmol/l en 12,84 mmol/l. De berekende LDL-C concentratie is uitgezet

tegen de rechtstreeks gemeten LDL-C (colorimetrische bepaling, LDL-cholesterol plus 2nd generation, P-Module, Roche Diagnostics, Mannheim).

Resultaat: Wanneer de Friedewaldformule wordt gebruikt voor het berekenen van de LDL-cholesterolconcentratie moet al bij een triglycerideconcentratie van >2 mmol/l en <4,5 mmol/l rekening gehouden worden met een >10% afwijking ten opzicht van de direct gemeten LDL-C bij 38% van de patiëntenmonsters. Bij een triglycerideconcentratie van >4,5 mmol/l is de afwijking van de berekende LDL-C ten opzichte van de gemeten LDL-C bij 61% van de patiëntenmonsters groter dan 10%. De rechtstreeks gemeten LDL-C is tot een triglycerideconcentratie van 51,8 mmol/l betrouwbaar te meten (bijsluiter).

Conclusie: Voor het bepalen van LDL-cholesterol raden wij aan de rechtstreeks gemeten methode te gebruiken, aangezien alleen LDL-C bepaald hoeft te worden bij (therapie)controle en het onafhankelijk is van de triglycerideconcentratie.

6. Zonder aanzuring geen effectieve remming glycolyse in natriumfluoride buis

E.F. EPPENS, J. SCHOUTEN, I. SMELTINK, E. SCHIPPER
SCAL Medische Diagnostiek, Leiden

Inleiding: Remming van glycolyse vindt plaats door toevoeging van natriumfluoride. De effectiviteit van deze remming staat ter discussie; deze vindt immers pas plaats na 4 uur. Greiner heeft een nieuwe afnamebuis ontwikkeld waarin naast natriumfluoride ook EDTA en citraat is toegevoegd: de Glucomedics buis. Aanzuring zou een onmiddellijke en complete remming van de glycolyse geven. In deze studie is de effectiviteit van deze buis bepaald.

Methode: Bij 27 niet-nuchtere vrijwilligers zijn tijdens één venapunctie 4 monsters afgenomen: (1) lithium-heparine bewaard op ijswater, (2) lithium-heparine, (3) natriumfluoride en (4) Glucomedics. De laatste drie buizen zijn bewaard bij kamertemperatuur. De volgorde van de buizen rouleerde per individu. Bij individu één was de volgorde 1-2-3-4, bij twee 2-3-4-1 enz. De glucoseconcentratie is 1 en 4 uur na afname bepaald op de Cobas C501 (Roche).

Resultaat: Gebruik van alle afnamebuizen leidde tot een gemiddelde daling in de glucoseconcentratie wanneer per buis type de 1 uurs-bepaling werd vergeleken met de 4 uurs-bepaling: (1) -4,5%, (2) -11,2%, (3) -3,4% en (4) -1,7%. Vergelijking van de glucoseconcentratie in de diverse typen buizen ten opzichte van de Glucomedics buis liet de volgende gemiddelde daling in de glucoseconcentratie zien: buis 1 na 1 uur: -7,0%, na 4 uur: -9,6%; buis 2 na 1 uur: -10,4% na 4 uur: -19,0%; buis 3 na 1 uur: -10,8% en na 4 uur: -12,3%.

Conclusie: De Glucomedics buis remt de glycolyse op een effectieve wijze. Aanzuring van het monster in combinatie met natriumfluoride is essentieel om de glycolyse te remmen. Gebruik van natriumfluoride alleen leidt tot een significante daling in de glucoseconcentratie na 1 en 4 uur. Daarentegen kan met de Glucomedics buis een betrouwbare glucose uitslag gerapporteerd worden.

7. Simultaneous measurement of cortisol and melatonin in human plasma using liquid chromatography tandem mass spectrometry

H.J.R. van FAASSEN, I.P. KEMA
University Medical Center Groningen, Department of Laboratory Medicine, Groningen, The Netherlands

Introduction: Disruption of circadian rhythm can have serious health implications. Cortisol and melatonin show circadian rhythm and are of interest in several research areas such as depression, metabolic syndrome and etiology of delirium. To monitor plasma cortisol and melatonin concentrations multiple times a day and over several days in an intensive care population we developed a sensitive high-throughput LC-MS/MS method for the combined analysis of cortisol and melatonin in plasma.

Methods: EDTA-plasma was collected and 200 µL was pipetted into a 96-well plate. Internal standard and 200µL precipitation reagent were added and the plate was centrifuged. Subsequently 200µL plasma equivalent was injected onto the Symbiosis system (Spark Holland). Online sample extraction was performed with Oasis HLB cartridges and chromatographic separation was achieved within 7.5 min on a Luna Phenyl-Hexyl column (Phenomenex). Mass spectrometric detection in positive mode

was performed with a quadrupole tandem mass spectrometer (Xevo TQ-MS, Waters).

Results: Intra- and inter-day precision were <10% at three different levels for both components. Linearity was excellent for cortisol and melatonin ($r^2 > 0.99$). LLOQ for cortisol and melatonin was determined at 0.2nM and 10pM which is adequate for quantifying these hormones in plasma. There was no analytical interference from cortisone, as it was chromatographically separated from cortisol.

Conclusion: To our knowledge we have developed the first high throughput tandem mass spectrometric method for the simultaneous analysis of melatonin and cortisol in plasma. Currently the method is being applied in several large research studies, eg. role of cortisol and melatonin in delirium and circadian rhythm in an intensive care population. The method presented here is also applicable for the measurement of cortisol and melatonin in saliva.

8. Quantitative androgen profile in plasma using online SPE in combination with UPLC tandem mass spectrometry

H.J.R. van FAASSEN, I.P. KEMA
University Medical Center Groningen, Department of Laboratory Medicine, Groningen, The Netherlands

Introduction: The use of mass spectrometric based assays for the determination of steroids is finding its way into the clinical laboratory as the bar for steroid testing is continually being raised. Contrary to conventional immunoassays, mass spectrometry enables the simultaneous quantification of metabolically related compounds. In this light we aimed to develop an LC-MS/MS method for the measurement of the androgens: progesterone (P), dehydroepiandrosterone (DHEA), 17- α -hydroxyprogesterone (17OHP), testosterone (T), androstenedione (A) and dihydrotestosterone (DHT) in plasma with limited hands-on sample preparation.

Methods: 200 µL plasma or serum was pipetted into a 96 well plate and 25µL of internal standard (13-carbon labeled for each respective steroid) was added. 25µL of protein disrupting buffer was added to release the androgens from its binding proteins. Subsequently 5 µL plasma equivalent was injected onto the Online SPE Manager (Waters) and pre-purified using

C8-sorbent (Xbridge, Waters). Reversed phase chromatography was applied using a UPLC core-shell C18 column (Cortecs, Waters). Mass spectrometric detection was operated in selective reaction monitoring mode using a quadrupole tandem mass spectrometer with positive electrospray ionization (Xevo TQ-S, Waters).

Results: Total run-time was 7 minutes. Intra- and inter-assay analytical variation were <10% for all steroids. Linearity in the calibration range for each respective steroid was excellent ($r^2 > 0.99$). Several related steroids were tested, but did not interfere in the analysis.

Conclusion: We have developed a sensitive and selective mass spectrometric analysis for the measurement of androgens in plasma which can be completely automated. The method is sensitive enough to detect DHT in adult males and females whereas DHEA quantification proved only possible in adult males. Currently reference range studies are in progress.

Hemocytometrie, flowcytometrie, hemostasis

9. Applicability of global coagulation assays in monitoring the reversal of direct factor Xa- and thrombin inhibitors by prothrombin complex concentrate

J. DINKELAAR¹, S. PATIWAEL², J. HARENBERG³, A. LEYTE¹, H.M. BRINKMAN²

Haematology and Clinical Chemistry Laboratory¹, Onze Lieve Vrouwe Gasthuis, Amsterdam, The Netherlands. Department of Plasma Proteins², Sanquin Research, Amsterdam, The Netherlands. Clinical Pharmacology Mannheim³, Ruprecht-Karls-University Heidelberg, Heidelberg, Germany

Introduction: Current assays for the measurement of plasma levels of direct activated factor X (factor Xa) and thrombin inhibitors (DOACs), mass spectrometry and direct factor Xa and thrombin inhibition assays, do not allow monitoring anticoagulation reversal by activated factor VII or prothrombin complex concentrate (PCC). Evaluation of the applicability of a variety of commercially available global coagulation assays in monitoring the reversal of DOAC anticoagulation by PCC.

Methods: Plasma and whole blood were spiked with Apixaban or Dabigatran and PCC was added to these samples. Prothrombin time (PT), activated partial prothrombin time (aPTT), thrombography (CAT method) and thromboelastography (ROTEM, TEG) were performed.

Results: Although all examined global assays showed sensitivity towards DOACs, only the parameters lag time (CAT) and reaction time R (TEG triggered with tissue factor, TEG-TF) revealed an

in vitro effective concentration within the therapeutic range for all inhibitors examined. Assays triggered by tissue factor showed (partial) correction and in some cases overcorrection of DOAC anticoagulation of the following parameters: clotting or reaction time (PT, TEG-TF, EXTEM, FIBTEM); angle (TEG-TF); (CAT) lag time, ETP and peak thrombin. Assays triggered by contact activation (aPTT, INTEM) did not show inhibitor reversal by PCC.

Conclusion: The observed effects of DOACs and PCC on global coagulation assays triggered with TF are in agreement with current concepts of thrombin generation. General applicability of examined global assays in monitoring reversal of DOAC anticoagulation in clinical settings is hampered by their low sensitivity and lack of clinical evidence on correlation with bleeding.

10. Analytical validation of the red blood cell aggregation test and the erythrocyte deformability test on the LoRRca MaxSIS

R.K. SCHINDHELM, IJ. REYNEVELD, J. van PELT, M. SCHOORL

Department of Clinical Chemistry, Hematology and Immunology, Medical Center, Alkmaar, The Netherlands

Introduction: With the LoRRca MaxSIS analyser it is possible to measure red blood cell (RBC) properties. The RBC-aggregation syllectogram distinguishes four behavioural stages: disaggregation, RBC-shape recovery, rouleaux-formation and 3D-aggregate formation. Results are expressed in extend of aggregation (amplitude), kinetics of aggregation (T1/2), aggregation index (AI) and threshold shear rate (Y at dlsc min). The RBC-deformability curve indicates the change in the diffraction pattern during application of increased shear stress, expressed in the maximum elongation index (EImax) and the pressure needed to elongate a cell for half of its maximum elongation (SS1/2).

Methods: Performance characteristics of the erythrocyte deformability and aggregation tests were evaluated. K2EDTA anticoagulated blood samples were analyzed within 4h after

collection. Intra- and inter-assay variation was determined in with 10 samples in 3-fold. Sample stability was performed up to 48 hours with 4 samples at room temperature.

Results: Intra- and inter-assay variation were AI <3%, amplitude <5%, T1/2 <7% and y dlsc min <10%. The effect of time up to 24 hours did not obviously effect RBC aggregation results; afterwards a decrease of 25% in amplitude was detected. Results concerning intra- and inter-assay variation yielded appropriate results for EImax <1% and SS1/2 <6%. The effect of time up to 48 hours did not obviously effect RBC-deformability results.

Conclusion: RBC aggregation and erythrocyte deformability assays on the LoRRca MaxSIS have a good analytical performance. Results of the current evaluation are promising for additional investigations in clinical settings.

11. Foetaal hemoglobine bepaling met flowcytometrie. Uitstekend alternatief voor de Kleihauer-Betke test

J. LEUVENINK, J. van BREEMEN, M. van GERVEN

Jeroen Bosch ziekenhuis, LKCH, 's-Hertogenbosch

Inleiding: De Kleihauer-Betke test wordt gebruikt bij het vaststellen van een foeto-maternale transfusie Enerzijds om te bepalen of er voldoende anti-D profylaxe aan Rhesus negatieve moeders gegeven is. Anderzijds om bij traumatische gebeurtenissen vast te stellen of er sprake is van een foeto-maternale transfusie en de mate daarvan.

Methode: De Kleihauer-Betke bepaling is een cytochemische bepaling uitgevoerd op een bloeduitstrijk van de moeder. Voor de HbF methode mbv flowcytometrie wordt de Quikquant kit (Trillium Diagnostics) gebruikt. Na validatie werden de resultaten en ervaringen van het eerste halfjaar geëvalueerd. De test wordt driemaal per week binnen kantooruren ingezet tenzij er in overleg met de klinisch chemicus anders bepaald wordt.

Resultaat: In de zes maanden dat de foetale HbF kit in gebruik is genomen werden 116 bepalingen uitgevoerd. Het aantal positieve resultaten ($\geq 0,3$ promille) bedroeg 11,2%. De gemiddelde doorlooptijd is een uur. De belasting voor de dienstdoende analist is afgenomen tot nul. In de periode van een half jaar zijn er na overleg geen testen meer buiten kantooruren ingezet. De controles liggen binnen targetwaarden met % CV van 5 en 12%. Daarnaast bleek dat er een uitstekende scheiding is tussen adult HbF en foetaal HbF op basis van expressie.

Conclusie: Na invoering van de HbF test met behulp van flowcytometrie als alternatief voor de Kleihauer-Betke test werd na zes maanden geëvalueerd. Er werden 11% positieve testen gerapporteerd. Er zijn geen HbF testen meer in het weekend ingezet. De kwaliteit is enorm verbeterd. De efficiency en belasting voor de dienst zijn sterk verbeterd.

12. Detection of reactive lymphocytes with immunological leukocyte differentiation by Cytodiff™

J.F.W. KEUREN^{1,2}, K. HAANAPPEL¹, G.W.A. LANSBERGEN^{1,2}, A.P. van ROSSUM³

Departments of Clinical Chemistry, Groene Hart Ziekenhuis (GHZ)¹, Gouda; Zuwe Hofpoort Ziekenhuis², Woerden and Bronovo Ziekenhuis³, The Hague

Introduction: The Cytodiff™ panel is a 5-color/6-marker reagent that provides extended white blood cell differentiation. In addition to the 5 classical leukocyte populations it detects immature granulocytes, lymphocyte subsets, monocyte subsets and blast cells with a preliminary lineage orientation. In the GHZ laboratory Cytodiff™ is conducted when the hematology analyser generates a flag on automated leukocyte-diff. This intervention led to further automation and extra parameters that give rapid diagnostic information. Hematology analyzers often produce false positive flagging on abnormal lymphocytes/lymphoblast. Cytodiff™ easily discriminates these cell types. We further examined whether Cytodiff™ can detect reactive lymphocytosis.

Methods: Cytodiff™ data in this study were generated in blood samples with a flag on the automated leukocyte-diff. An extra gate was created on T-lymphocytes (T-Ly) with increased forward scatter (highFS) to identify abnormal lymphocytes. We analysed T-Ly% (percentage with respect to total leukocytes) and T-Ly-highFS% in a group with active viral infection

confirmed by serology and controls without signs of viral disease (Mean±SD; Mann-U test). Specificity(Sp), Sensitivity(Se) and cut-off were established using receiver-operating-characteristic(ROC) curve analysis.

Results: T-Ly% were increased ($P<0.0001$) in patients with viral disease ($63.6\% \pm 14.0$, $n=178$) compared to controls ($24.7\% \pm 14.9$, $n=3526$). A threshold value of 50% T-Ly (Se=87%; Sp=95%, AUC 0.96) detected viral disease with high clinical accuracy. The percentage of T-Ly-highFS was analysed for two months and was increased ($P<0.0001$) in patients with viral disease ($1.47 \pm 0.97\%$; $n=24$) compared to controls (0.18 ± 0.14 ; $n=49$). Values above 0.60% T-Ly-highFS confirmed viral disease (Se=88%; Sp=100%, AUC 0.99). We note that in patients with T-cell malignancies (T-PLL/T-ALL) T-Ly-highFS% were $<0.34\%$.

Conclusion: Cytodiff™ analysis effectively detects reactive lymphocytosis. This could further reduce manual labour-intensive microscopic reviewing.

13. Foetomaternale transfusie; manuele, microscopische Kleihauer-Betke test met exacte celtelling en schatting versus twee parameter flowcytometrie

M. van der HORST, J.G.J. POUWELS

Leveste locatie Scheper Ziekenhuis, Klinisch-chemisch laboratorium, Emmen

Inleiding: De Kleihauer-Betke test (KBT) voor de bepaling van foetomaternale transfusie wordt in Nederlandse laboratoria nog veel gebruikt. Langzamerhand komt echter de flowcytometrische bepaling op. Het doel van dit onderzoek was om de kwaliteit van beide methodes te bepalen, waarbij de KBT o.b.v. schattingen en objectieve exacte manuele celtellingen is verricht.

Methode: Een reeks standaarden ($n=8$; range: 0,04-4,16%) is gemaakt met maternaal bloed, gespiket met navelstrengbloed. Voor de berekening van de spike is rekening gehouden met het verschil in erytrocytenconcentraties. Er zijn uitstrijkjes gemaakt en gekleurd volgens voorschrift KBT (Immucor-Gamma). Van deze uitstrijkjes zijn foto's gemaakt waarvan het aantal afgebeelde cellen exact is geteld. Tevens is een schatting gemaakt van dezelfde uitstrijkjes (beide $n=5000$). Flowcytometrisch is de standaardcurve bepaald m.b.v. een twee parameter flowcytometrische bepaling o.b.v. anti-carboanhydrase en anti-HbF (Fetal Cell Count Kit II/IQProducts) ($n=100.000$).

Resultaat: De correlatie voor de KBT test (schatten, exacte telling) en flowcytometrische analyse t.o.v. de berekende waarde

waren resp.: 0,9795, 0,9773 en 0,9978. Het 95% betrouwbaarheidsinterval voor slope en intercept voor KBT (schatten, tellen) bleek groter dan voor de flowcytometrische analyse (slope resp.: 0,859-1,148, 0,878-1,193 en 0,945-1,037/Y-intercept resp.: -0,163-0,414, -0,233-0,412 en -0,105-0,079).

Conclusie: Hoewel geautomatiseerde telling van uitstrijkjes mogelijk is wordt de KBT veelal uitgevoerd door een deel van een veld te tellen en vervolgens te extrapoleren o.b.v. schattingen. Objectieve exacte tellingen d.m.v. het maken van foto's zal de kwaliteit m.n. in het lage gebied enigszins verbeteren. Deze blijft achter bij flowcytometrische analyse op basis van twee parameters waarbij eenvoudig veel meer cellen kunnen worden beoordeeld. Om de stand van zaken in de Nederlandse laboratoria beter in beeld te brengen zou een externe controle wenselijk zijn.

Literatuur: Egberts. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk. 2005; 30:245-249

14. Impact of dabigatran on routine and specific coagulation assays in patients treated by dabigatran

E. GEMEN¹, A. KARIMAN¹, J. van DIJK¹, M. van ECK², N. PÉQUÉRIAUX¹

Laboratory of Clinical Chemistry and Haematology¹ and Cardiology department², Jeroen Bosch Hospital 's-Hertogenbosch, The Netherlands

Introduction: Dabigatran is a direct thrombin inhibitor which is used in patients with non-valvular atrial fibrillation, to reduce the risk of stroke. We investigated the effect of dabigatran in treated patients on routine and specific coagulation assays. Until now, most of the studies are in vitro studies with dabigatran spiked plasma.

Methods: Nineteen patients treated by dabigatran (> 5 years) were included at the last Rely-able visit. We measured the

following coagulation assays on a STA-R coagulation analyser (Diagnostica Stago, France): INR (hepatoquick®), PT (Neoplastin plus®), aPTT (aPTT kaolin®), fibrinogen (Clauss method®), ATIII (inhibition of thrombin), LAC (STACLOT DRVVT® / PTT-LA®), and factors of the extrinsic and intrinsic pathways, II-V-VII-X-VIII-XI-XI-XII. Although we measured APC (Pefakit APC-R factor V Leiden®, Kordia Life Sciences, RG Leiden, The Netherlands) and the dabigatran concentration

with Hemoclot® (Hyphen Biomed, Neuville-sur-Oise, France). We assumed that our patients have no coagulation disorders before entering the study. Ethical approval was obtained for conducting the study at the Jeroen Bosch Hospital.

Results: In 18 patients (dabigatran levels from 16–639 µg/ml), we found the following results: aPTT rise (30.6–80.4 sec) and factors VIII–IX–XI–XII were underestimated as dabigatran concentration increase. PT and Factors II–V–VII–X were less affected. LA screen, confirm and APC-R were strongly affected.

All affected assays seemed to respond in a dose-dependent manner. INR, fibrinogen and ATIII were not or less affected.

Conclusion: We showed the effect of dabigatran on routine and specific coagulation assays. Our results are in accordance with previous results reported in studies with dabigatran spiked plasma. Clinician and laboratory specialist must be aware of the impact of the dabigatran on the coagulation assays to avoid misinterpreting test results.

15. The SKML hemocytometry external quality control (EQC) as an external quality control for flow cytometric leukocyte differentiation by Cytodiff™

G.J.M. van de GEIJN¹, A.P. van ROSSUM², G.W.A. LANSBERGEN^{3,4}, J.F.W. KEUREN^{3,4}, K. MOHRMANN⁵, F.J. DUISTERWINKEL⁶, A. KRUIT⁶, N. BROUWER^{7,*}, G.J.J. BEUKEVELD⁸, J.J.C.M. van de LEUR⁹, G.W.D. WEIJERS¹⁰, T.L. NJO¹

*Departments of Clinical Chemistry of Sint Franciscus Gasthuis¹, Rotterdam, Bronovo Ziekenhuis², The Hague, Groene Hart Ziekenhuis³, Gouda, Zuwe Hofpoort Ziekenhuis⁴, Woerden, SHL-groep⁵, Etten Leur, Ziekenhuis Nij Smellinghe⁶, Drachten, MCA⁷, Alkmaar, Westfries Gasthuis⁸, Hoorn, Isala Klinieken⁹, Zwolle, and Beckman Coulter¹⁰, Woerden, The Netherlands. * huidige lokatie: 't Langeland Ziekenhuis, Zoetermeer*

Introduction: Leukocyte differential counting is frequently used in laboratory diagnostics. Hematology (hemocytometry) analyzers generate an automated leukocyte differential. Samples not meeting specific criteria are flagged for microscopic review. Alternatively, leukocyte differential counting can be performed by flow cytometry. Advantages over a hematology analyzer or microscopy are counting statistics and populations defined by immunology. Cytodiff™ (Beckman Coulter) is a CE-certified, 5-color, 6-antibody cocktail for a 17-part differential, including B- and T+NK-cells, different classes of blasts and progenitors (Faucher et al, Roussel et al). Several Dutch laboratories are using Cytodiff™ in their routine laboratory, or are validating this. We tested the performance of Cytodiff™ in different laboratories by measuring the SKML hemocytometry external quality control (EQC).

Methods: The regular EQC for hemocytometry were issued by the Dutch Society for Quality Control in Medical Laboratories (SKML). Laboratories using Cytodiff™ also participated in this EQC using Cytodiff™ on FC500 or Navios flow cytometers

(Beckman Coulter).

Results: Generally, Cytodiff™ results between laboratories were comparable. The EQC enabled its users to detect issues with the flow cytometer (threshold) or pre-analytical conditions (fixative). The most disparities between laboratories were created by the eosinophils and immature granulocytes, which were due to misgating by the automated software.

Conclusion: The use of the SKML hemocytometry EQC for Cytodiff™ proves a valuable tool for comparing results between different laboratories. In some cases, systematic deviations are found for a laboratory, prompting further attention and/or adjustment of analyzer settings. Unfortunately, samples from SKML do not contain abnormal populations (blasts or progenitors), which can be measured using Cytodiff™, making it difficult to assess the accuracy of this technique.

Literature: Faucher et al. Cytometry-A 2007, 71A:934. Roussel et al. Cytometry-A 2010, 77A:552.

16. Results of an external quality control CLL sample for flow cytometric leukocyte differentiation by Cytodiff™ by multiple laboratories

G.J.M. van de GEIJN¹, A.P. van ROSSUM², G.W.A. LANSBERGEN^{3,4}, J.F.W. KEUREN^{3,4}, K. MOHRMANN⁵, F.J. DUISTERWINKEL⁶, A. KRUIT⁶, N. BROUWER^{7,*}, J.J.C.M. van de LEUR⁸, B. MOSHAVER⁸, G.W.D. WEIJERS⁹, T.L. NJO¹.

*Departments of Clinical Chemistry of Sint Franciscus Gasthuis¹, Rotterdam, Bronovo Ziekenhuis², The Hague, Groene Hart Ziekenhuis³, Gouda, Zuwe Hofpoort Ziekenhuis⁴, Woerden, The Netherlands, SHL-groep⁵, Etten Leur, Ziekenhuis Nij Smellinghe⁶, Drachten, MCA⁷, Alkmaar, Isala Klinieken⁸, Zwolle, and Beckman Coulter⁹, Woerden, The Netherlands. * huidige lokatie: 't Langeland Ziekenhuis, Zoetermeer*

Introduction: Cytodiff™ (Beckman Coulter) is a CE-certified, 5-color, 6-antibody cocktail for a leukocyte differential by flow cytometry. It reports 17 leukocyte populations, including B- and T+NK-cells, different classes of blasts and progenitors (Faucher et al, Roussel et al). Several Dutch laboratories are either using Cytodiff™ in their routine diagnostics, or are validating this technique. Participating laboratories tested the performance of Cytodiff™ on a chronic lymphocytic leukemia (CLL) sample provided by SKML as 'special sample'.

Methods: Parallel to the regular EQC for hemocytometry issued by the Dutch society for quality control in medical laboratories (SKML), a special CLL sample (2012-6-I) was provided to Dutch laboratories using Cytodiff™. The sample was sent fresh (unfixed) and participating laboratories were blinded to the diagnosis.

Results: This special sample was diagnosed in the send-out laboratory using traditional multicolor flow cytometry (FACS-Canto II, BD-Biosciences). The cells were characterized as

CD45pos, CD19weak, CD5pos, CD20pos, CD23weak, kappa-weak, lambda-neg and CD10neg. The diagnosis was monoclonal B-cell population compatible with a B-CLL. All participating laboratories identified B-cells as aberrant cells by Cytodiff™ analysis. The B-CLL cells were classified by the auto-gating software as all B-cells in 3 laboratories (88–91% B-cells), or as a combination of B-cells (58–63%) with blasts (21–30% Xn) in 2 laboratories, or as B-cells (56%) combined with T-cells (37%) in 1 laboratory.

Conclusion: External quality control of fresh pathological blood samples provides a valuable tool for implementation of Cytodiff™ in the medical laboratory. All laboratories detected aberrant B-cells (CD19weak) in the CLL sample. Comparing results between participating laboratories provides a valuable platform for discussing analytical, logistical and reporting aspects.

Literature: Faucher et al. Cytometry-A 2007, 71A:934. Roussel et al. Cytometry-A 2010, 77A:552.

17. Validatie buizenpost voor ROTEM analyses

D.M. ROTTEVEEL - de GROOT¹, T. FRENZEL², J. NOORLAND¹, J. KULK¹, A.H. LOOF¹, E.C.M. van PAMPUS¹, N.A.P. HORN³, M. van ZWAM¹, J.D. OOSTING¹
Radboudumc, Afdeling Laboratoriumgeneeskunde¹, Afdeling Intensive Care², Afdeling Anesthesiologie³, Nijmegen

Inleiding: Rotatie tromboelastometrie (ROTEM) is een techniek waarmee snel een totaalbeeld van de hemostase in volbloed van patiënten verkregen kan worden. Vanwege deze relatieve snelheid vindt het apparaat met name zijn toepassing bij patiënten met acute bloedingen, zoals kan voorkomen na cardiothoracale chirurgie (CTC) of bij post partum fluxus. Omdat snelheid van bepalen essentieel is voor een goede toepassing, zullen monsters voor ROTEM in ons ziekenhuis met de buizenpost verstuurd moeten worden. In deze studie hebben wij mogelijke effecten van ons buizenpost systeem op de uitslag van ROTEM analyses geanalyseerd.

Methode: Bloedmonsters in duplo afgenomen van CTC patiënten

die na OK op de Intensive Care werden opgevangen zijn via de buizenpost of met lopend transport naar het laboratorium vervoerd, alwaar direct INTEM, EXTEM, FIBTEM en HEPTEM metingen zijn ingezet.

Resultaat: Uit de resultaten blijkt dat de parameters die in ons klinisch protocol zijn opgenomen (de A10 EX, A10 FIB en CT EX) door buizenpost transport niet klinisch significant worden beïnvloed.

Conclusie: Het buizenpostsysteem in ons ziekenhuis kan gebruikt worden voor het transport van monsters voor ROTEM analyses op het klinisch chemisch laboratorium.

18. Stability of whole blood for morphological smear analysis; is it time for a review?

M.M.J.F. KOENDERS, E.M. MOLHOEK, Y. KLUITERS - de HINGH

Department of Clinical Chemistry & Laboratory Hematology, St. Elisabeth Hospital, Tilburg, The Netherlands

Introduction: Studies concerning the stability of whole blood for morphological smear analysis are limited. The general consensus is based on expert opinions and states that blood smears should be prepared and stained within 4 hours after phlebotomy. In the light of centralization of laboratories, this advice is unfavourable and often not feasible. In this (pilot-) study the influence of blood cell conservation on smear analysis was analyzed in a small cohort of hospitalized patients.

Methods: Routine phlebotomy of EDTA anti-coagulated blood was performed on 10 randomly selected hospitalized patients. At designated intervals (1, 2, 4, 6, 8, 10 and 24 hours after phlebotomy) a blood smear was prepared, stained and microscopically analyzed. During microscopical analysis there was special attention for artefacts such as echinocytes, swelling, vacuolization, appearance of toxic granulation and morphology of the nucleus.

Results: Results indicated that there was no morphologic or numerical difference in blood smears prepared 1 to 8 hours after phlebotomy. Ten hours after phlebotomy small amount (<5%) of echinocytes appeared along with vacuolisation of monocytes. After 24 hours, a myriad of morphologic artefacts was seen. In addition, significantly less neutrophilic granulocytes and more lymphocytes were counted in a differential count of 100 cells.

Conclusion: Although this study included a small cohort of patients, it gives a first indication that a reliable analysis of a morphologic smear can be performed on blood smears prepared up to 8 hours after phlebotomy. This notion might be of particular interest to clinical laboratories that are centralized in so called 'Core Labs', thereby dealing with increased times between phlebotomy and analysis.

Immunoassay, (bloedgroepen-)serologie

19. Comparison of the measurement of anti-MPO, anti-PR3 and anti-GBM antibodies with the Inova BioFlash and the Thermo Fisher Phadia Immunocap 250

J.A. BAKKER, M.C. KERSBERGEN - van OOSTROM, A. GRUMMELS, H.P.C. SCHIPPERS

Department of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, Leiden University Medical Center, Leiden

Introduction: Determination of ANCA MPO and PR3 antibodies and anti-GBM antibodies is essential for the diagnosis and treatment of vasculitis and Goodpasture Syndrome, respectively. For early treatment quantitative results should be available 24/7. Besides the analytical performance, the Inova Bioflash was tested additionally for this purpose.

Methods: The Inova Bioflash Chemiluminescent immunoassay uses antigen coated magnetite core polystyrene microparticles. IgG- Isoluminol labeled anti-human IgG antibodies are used as a tracer. Oxidation of the isoluminol moiety produces a flash of light, proportional to the amount of bound antibody. The Thermo Fisher Phadia Immunocap 250 uses the well-known ELIA technique. Samples from patients with a positive ANCA pattern (n=130), Goodpasture syndrome (n=22) and patients with a negative history for ANCA screen, ANA screen and other autoimmune diseases (n=50) were compared between the two techniques. Concordance of the results was tested between

the BioFlash and the Immunocap250.

Results: Both the Bioflash and the Immunocap tested negative for the patients with a negative history. For patients having elevated antibodies against MPO, PR3 or GBM there was concordance in the ability to discriminate between anti-MPO, anti-PR3 or anti-GBM positive samples. There was a linear correlation between the anti-MPO and anti-GBM antibodies measured with both techniques. Anti- PR3 assay showed poor correlation between Bioflash and Immunocap250 results. There was a linear in-patient correlation for anti-PR3 antibodies. Further experiments are required to judge whether anti-PR3 can be used for routine analysis.

Conclusion: Quantification of anti-MPO, anti-PR3 and anti-GBM antibodies using the Bioflash gives concordant results with the Immunocap250. The accessibility of the system makes it suitable for use in 24/7 setting.

20. Identification of anti-parietal cell and anti-intrinsic factor antibodies by ELISA

K.L.M. COENE, J. CURVERS

Catharina Ziekenhuis Eindhoven, Algemeen Klinisch Laboratorium, Eindhoven, The Netherlands

Introduction: In current clinical practice, antibodies directed against parietal cells (a-PC, targeting gastric H⁺/K⁺ ATPase) and intrinsic factor (a-IF) are often determined to confirm the diagnosis of autoimmune gastritis and/or pernicious anemia. Recently, commercial ELISAs have become available for detection of these antibodies, which offer an appealing alternative to conventional indirect immunofluorescence- (IIF) or radioimmunoassays (RIA).

Methods: 31 sera, previously found positive for a-PC by IIF on rat stomach/kidney/liver slides and/or positive for a-IF by RIA, were tested using Euroimmun and Inova QUANTA Lite a-PC and a-IF ELISAs. Also, 19 sera of patients suspected for pernicious anemia but a-PC/a-IF negative, were included. ELISAs were performed on a DS2-analyser (Clindia).

Results: Overall concordance with a-PC IIF was 60% for both the Euroimmun and the Inova ELISA, however, 44% of all

samples was a-PC positive in the Inova ELISA, while in the Euroimmun ELISA, this was only 16%. Especially IIF negative patients with low Hb/B12 were positive in the Inova ELISA. 96% of Inova a-PC negative samples were also a-IF negative. Overall concordance of the ELISAs with the a-IF RIA was 78% for Euroimmun and 92% for the Inova ELISA. The Euroimmun ELISA was not able to detect any RIA-positive a-IF sample. For the Inova ELISA, an even higher concordance of 98% could be reached by lowering the cut-off to 10 U/mL.

Conclusion: We found that the Inova a-PC ELISA has increased specificity as well as sensitivity compared to IIF and the Euroimmun ELISA, especially in patients with low Hb/B12. For the detection of a-IF, the Inova ELISA is superior to the Euroimmun ELISA. Lowering the cut-off could be considered to improve concordance of the Inova ELISA with a-IF RIA.

21. A patient with a very high concentration of B-type natriuretic peptide (BNP) and a normal N-terminal pro-BNP concentration

M.J.W. JANSSEN¹, M.H. VELMANS¹, W.F. HEESSEN²

Laboratory of clinical chemistry and hematology¹ and Department of Cardiology², Viecuri Medical Centre, Venlo, The Netherlands

Introduction: A 61-year-old female presented with non-typical chest pain. Myocardial ischemia was ruled out. Very high levels (>25 ULN) of plasma B-type natriuretic peptide (BNP) were found, although she did not exhibit dyspnoea or other clinical symptoms of heart failure. Echocardiography did not provide an explanation for the elevated BNP concentrations. The serum N-terminal pro-BNP (NT pro-BNP) concentration appeared to be normal and serum S100B analysis excluded brain damage. In follow-up, the chest pain complaints disappeared but BNP remained elevated at the same levels. This led us to doubt the accuracy of these BNP values.

Methods: Possible interference was investigated with BNP and N-terminal pro-BNP (NT pro-BNP) assays from different manufacturers, various (auto)antibody tests, dilutions, addition

of mouse serum and polyethylene glycol (PEG) precipitation.

Results: BNP and NT pro-BNP concentrations were normal when measured using all other (NT pro-)BNP immunoassays. Serial dilutions of sample and addition of mouse serum did not alter the results. Specific (auto)antibody tests were negative. However, PEG precipitation showed the possible presence of a high molecular weight immunoreactive protein.

Conclusion: We report a false positive BNP result possibly caused by a macro-BNP. This macro-BNP was only immunoreactive in the Abbott Architect BNP immunoassay. Clinicians should be aware of analytical interference when BNP results are constantly elevated in the absence of (non)cardiac causes corresponding to an increased BNP.

22. Comprehensive clinical toxicology screening by a novel ion trap MSn (Toxtyper) workflow

R. van der HEIJDEN¹, M. MEYER², C. GEBHARDT², B. SCHNEIDER², S. GÖTZ², L. HUPPERTZ³, S. VOGT³, J. KEMPF³
Bruker Nederland BV¹, Wormer, NL Bruker Daltonik GmbH², Bremen, Germany, Institute of Legal Medicine³, University Medical Center Freiburg, Germany

Introduction: In the field of clinical and forensic toxicology there is a high demand for specific, and comprehensive techniques overcoming the well-known limitations of current technologies (GC-MS, LC-UV/DAD and immunoassays). LC-MS/MS combined with library searching is a powerful screening solution for toxicology. On the basis of the Toxtyper[®] workflow we describe a robust and easy-to-use solution for the detection and identification of drugs and drugs of abuse in biological specimens. This workflow was evaluated with regard to method- and result-transferability from lab to lab.

Methods: Three spiked and one blank serum were sent to five labs and analyzed on seven Toxtyper systems in total. Samples were prepared by LLE and by UHPLC (11 min method). amaZon speed LC-MSn systems (Bruker Daltonics) were used for generation of MS and MSn spectra in alternating polarity mode.

Results: On the basis of a spectral MSn library that holds currently 839 toxins, drugs and drugs of abuse we carried out an interlaboratory test with 7 ion trap LC-MSn systems to prove the robustness, transferability and reproducibility of this screening workflow. The fragmentation results revealed a high degree of reproducibility, which is the basis for transferability of library search results. Over 97% of the compounds were correctly identified.

Conclusion: The Toxtyper workflow ensures fast and robust screening results. A high level of transferability of the results from lab-to-lab was achieved due to the automated ramping of the excitation voltage (SmartFragTM). The workflow results in reliable identification results with a very low level of false positives. A high level of confidence is provided by the qualified MSn library as well as retention time information.

23. Bioanalytical assay using Anticalin as next generation antibody mimetic: application to the small peptide hormone hepcidin

N. GREBENCHTCHIKOV¹, A.J. GEURTS-MOESPOT¹, S. TRENTMANN², N. ANDERSEN², R.S. BEL AIBA², A. ALLERSDORFER², C.M. LAARAKKERS¹, F.C. SWEEP¹, H. TJALSMA¹, A.M. HOHLBAUM², D.W. SWINKELS¹
Department of Laboratory Medicine¹, Laboratory of Genetic, Metabolic and Endocrine Diseases, Radboud University Medical Centre, Nijmegen, the Netherlands; Pieris AG², Freising, Germany

Introduction: Anticalins are human lipocalins that are engineered to bind relevant targets with high affinity and specificity. The hepatic 25-amino acid peptide hormone hepcidin plays a central role in body iron metabolism. Therefore, it could become a useful biomarker, but the availability of reliable, affordable and high throughput assays is limited.

Methods: We developed and validated a bio-analytical assay for plasma and serum hepcidin using Anticalin PRS-081 as a next generation antibody mimetic against human hepcidin and biotin-labelled hepcidin-25 as a tracer.

Results: This assay exhibited a low detection limit (20.9 pM), low imprecision (CV-range at 3 levels: 5.9-10.3%), and good linearity and recovery (mean, 93.4%; range, 69.7-109.7%). Hepcidin concentrations measured in samples from healthy individuals and patients with various iron disorders (n=28),

showed excellent agreement with both our validated in house quantitative time-of-flight mass spectrometry and competitive-ELISA.

Conclusion: The Anticalin-based hepcidin assay (i) precludes the use of expensive antibodies that are often difficult to obtain in case of small and conserved peptides, (ii) is easy to perform and many samples can be processed within one assay-run, and (iii) shows accurate, reproducible and sensitive measurements. It is therefore anticipated that Anticalin based assays will become particularly useful to study concentrations of small and highly conserved peptides among which, as here exemplified, is hepcidin. To the best of our knowledge, this work is the first successful example for the use of scaffold binding proteins other than antibodies in clinical laboratory practice.

Chromatografie: HPLC, GC, CE

24. Development and validation of a quantification method for 8-iso-prostaglandin F2alpha (8-iso-PGF2α) using GC-MS/MS

B. RUIZ-NÚÑEZ, G.H.A.M. van den HURK, A.T. PRANGER, I.P. KEMA, D.A.J. DIJCK-BROUWER, F.A.J. MUSKIET
Laboratory Medicine, University Medical Center Groningen (UMCG), The Netherlands

Introduction: Oxidative stress plays a major role in low-grade inflammation and overt inflammatory diseases. Isoprostanes are a series of prostaglandin-like compounds produced by free radical-catalyzed peroxidation of arachidonic acid independent of cyclooxygenase, widely considered as reliable biomarkers of oxidative stress in vivo. Our aim was to develop and validate a method for the measurement of 8-iso-prostaglandin F2alpha (8-iso-PGF2α), an abundant isoprostane isomer, in human urine, using GC-tandem MS.

Methods: We added 2.5 ng tetra-deuterated 8-iso-PGF2α to 4 mL urine. The pH was adjusted to 3 (formate buffer) and the sample purified by a reversed phase disposable column (HLB). The evaporated eluent was derivatized with pentafluorobenzyl-bromide, washed (heptane/water), purified by a straight phase disposable column, derivatized with N,O-bis-(trimethylsilyl) trifluoroacetamide, and evaporated/redissolved in ethyl acetate. Analysis of the PFB-(TMS)3 8-iso-PGF2α derivative occurred with a medium-polar ZB-50 column (0.25 μm; 60 m x 0.25 mm

ID, Phenomenex). Detection was performed by negative chemical ionization (methane) MS/MS, using 569-299 and 573-303 m/z transitions and 569-273 as qualifier. Validation [accuracy, precision, linearity, quantification limit (LOQ)] was performed using urine obtained from two healthy volunteers: QC-low, non-smoker; QC-medium, smoker.

Results: QC sample mean concentrations and intra- and inter-assay CVs (n=6) resulted as follows: 152 ng/L, 4.03%, 6.05% (QC-low) and 610 ng/L, 6.64%, 7.22% (QC-medium). Preliminary recovery was 98% in urine with 0.4 nmol/L endogenous and 2.25 nmol/L of spiked 8-iso-PGF2α. LOQ was estimated at 50 ng/L. The measured mean concentrations of 0.20 ng/mg creatinine (QC-low) and 0.43 ng/mg creatinine (QC-medium) for healthy adults compared well with previous literature data (0.22±0.14 ng/mg creatinine).

Conclusion: This method for 8-iso-PGF2α seems sensitive and precise and will have to prove its applicability in clinical practice.

25. Invloed Capsaïcines op de bepaling van metanefrines in urine

M. NEELE¹, A.A. AARNOUDSE¹, J. van der LINDEN², S. KOS¹
Afdeling Klinische Chemie¹ en Interne Geneeskunde², Maasstad ziekenhuis Rotterdam

Inleiding: Capsaïcine is een hittebestendig alkaloïde, voornamelijk aanwezig in de zaadlijsten van paprikasoorten (Capsicum annum) en peper (vooral rode chilipeper), maar ook in afslanktabletten. Capsaïcine blijkt grote overeenkomst te vertonen met de gebruikte interne standaard (IS) vanillylamine bij de HPLC bepaling naar (Nor)-Metanefrines (NMN/MN) in urine. Naar aanleiding van optredende storingen van de IS, die aan voeding gerelateerd leken, hebben we onder gecontroleerde omstandigheden de invloed van capsaïcine op deze bepaling getoetst.

Methode: In een pilot hebben vier laboratoriummedewerkers (april 2012) 2x24-uurs urine verzameld, zonder en na een gestandaardiseerd capsaïcine-rijk dieet. Totale NMN/MN werden bepaald met de HPLC-FD na Solid Phase Extraction (SPE).

Aan een vaste hoeveelheid urine wordt een bekende concentratie IS toegevoegd, waarna vervolgens de urine, na zure hydrolyse, gezuiverd wordt met Bond ELUT SPE tubes (Instruchemie Delfzijl NL). De NMN/MN fracties worden isocratisch gescheiden met behulp van HPLC.

Resultaat: De afname in concentratie voor zowel NMN (van 0,99 +/- 0,51 μmol/L naar 0,68 +/- 0,33 μmol/L, afname 32% +/- 17%, p = 0,04) als voor MN (van 0,36 +/- 0,14 μmol/L naar 0,24 +/- 0,09 μmol/L, afname 32% +/- 18%, p = 0,02) na capsaïcine-rijk ten opzichte van capsaïcine-vrij dieet waren significant.

Conclusie: De berekening van NMN en MN in urine kan beïnvloed worden door een capsaïcine-rijk dieet en daardoor tot vals negatieve resultaten leiden. Capsaïcines vallen na zure

hydrolyse uiteen, waarbij vanillylamine vrijkomt dat de concentratie van de IS verhoogt. Vervolgonderzoek in gestandaard-

diseerde setting is nodig om de impact van deze bevinding vast te stellen.

26. Vergelijkingsstudie tussen een gecombineerde vitamine B1 en B6 HPLC methode en de standaard afzonderlijke methoden

P.J. GEUTJES, J.M.W. van den OUWELAND

Klinisch Chemisch Laboratorium, Canisius-Wilhelmina Ziekenhuis, Nijmegen

Inleiding: De monstervoorbewerking en analyse van de vitamine B1 en B6 bepaling is arbeidsintensief. De vitamine B1 en B6 HPLC methode van Instruchemie maakt het mogelijk om beide vitamines in één run te bepalen waarmee analistentijd bespaard kan worden. Het doel van deze studie was om deze nieuwe methode te vergelijken met de afzonderlijke methoden voor vitamine B1 en B6.

Methode: EDTA volbloed monsters, interne controles en SKML enquête monsters werden onteiwit, gecentrifugeerd en gefiltreerd. Het supernatant werd in twee vials verdeeld en afzonderlijk gederiviseerd. Vervolgens werden deze monsters aan elkaar toegevoegd en geïncubeerd om de eindoplossing te vormen. De monsters werden met behulp van een C18 Phenomenex kolom isocratisch (reagens van Instruchemie) op een HPLC-fluorescentie gescheiden. De resultaten werden vergeleken met de afzonderlijke in house bepalingmethoden (op basis van ferricyanide voor vitamine B1 (thiaminedifosfaat) en semicarbazide voor vitamine B6 (pyridoxaal-5-fosfaat)) en

geanalyseerd met behulp van Passing-Bablok (PB) regressie en Bland-Altman analyse (n=20).

Resultaat: De PB-regressie en correlatie (r^2) van de vitamine B1 en B6 van Instruchemie met de in house methoden was 0,95 (95%CI: 0,82-1,11) x B1 standaard +7,0 (95%CI: -10,5-23,5), $r^2=0,92$ en 1,08 (95%CI: 0,87-1,20) x B6 standaard -7,9 (95%CI: -19,7-3,9), $r^2=0,93$, respectievelijk. De gemiddelde concentratie verschillen van de Instruchemie methode ten opzichte van de standaard methoden lagen 10% hoger voor vitamine B1 (bias±SD: 7 ± 21 nmol/l) en 5% lager voor vitamine B6 (bias±SD: 4 ± 16 nmol/l).

Conclusie: De correlatie tussen de Instruchemie en de standaard methoden was acceptabel. De procentuele verschillen tussen beide methoden zijn niet significant en hebben geen effect op de klinische uitkomst. Implementatie van de gecombineerde HPLC methode kan met behoud van de analytische prestatie de analysetijd halveren.

27. Methodevergelijkingsonderzoek van verschillende vitamine B6 bepalingen

R.J.A.C. ROELOFSEN - de BEER^{1,5}, B.D. van ZELST¹, I.P. KEMA², S. KOS³, F.P.W. TEGELAERS⁴, S.C. ENDENBURG⁵, C.W. WEYKAMP⁶, R. de JONGE¹

ErasmusMC¹, AKC, Rotterdam; UMCG², Laboratoriumgeneeskunde, Groningen; Maasstad Ziekenhuis³, KCL, Rotterdam; Medisch Centrum Alkmaar⁴, Laboratorium KCHI, Alkmaar; Ziekenhuis Gelderse Vallei⁵, KCHL, Ede; Streekziekenhuis Konigin Beatrix⁶, KCHL, Winterswijk

Inleiding: Vitamine B6 is een cofactor in vele biologische processen. Zowel een tekort als een teveel van dit molecuul kan leiden tot gezondheidsklachten (o.a. polyneuropathie). Recent is in het ErasmusMC een LC-MS/MS methode ontwikkeld om vitamine B6, ofwel pyridoxal-5-fosfaat (PLP) te meten. In de validatiefase is een kleinschalig methodevergelijkingsonderzoek uitgevoerd dat aanleiding gaf om de vergelijking breder te trekken en ook naar commuteerbaarheid van materiaal te kijken.

Methode: In samenwerking met de SKML zijn zes monsters rondgestuurd naar 58 laboratoria in Nederland. Het betrof vers volbloed, ingevroren volbloed en gevriesdroogd volbloed, al dan niet gespiked met 100 nmol/L PLP. Van de ingestuurde resultaten zijn de gemiddeldes en variatiecoëfficiënten berekend per monster en tevens is een uitsplitsing gemaakt naar bepalingmethode.

Resultaat: De respons op dit onderzoek was hoog (84%). Er is onderscheid gemaakt tussen de LC-MS/MS methode (n=1),

'eigen' HPLC- methodes (n=12), Chromsystems gebruikers (n=33) en Instruchemie gebruikers (n=3).

Conclusie: Deze studie laat zien dat er een groot verschil is tussen de vitamine B6 waarde die wordt gevonden door Chromsystems gebruikers (ca. 30% hoger) en de overige gebruikers wanneer de bepaling plaatsvindt in vers of ingevroren bloed. Bij gevriesdroogd materiaal is dit verschil niet zichtbaar, wat conform de huidige SKML rondzendingsresultaten is. Verder is de variatie tussen methodes bij gebruik van vers of ingevroren volbloed erg groot (15-27%). Mogelijk is de instabiliteit van het PLP-molecuul hierbij een complicerende factor. Het gebruik van gevriesdroogd materiaal levert waarden op met de kleinste variatie (11%).

Literatuur: van Zelst et al. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 2012, 909:134

Vlamfotometrie, AAS, massaspectrometrie

28. Measurement of serum testosterone, androstenedione and dehydroepiandrosterone (DHEA) levels using Isotope-Dilution Liquid-Chromatography Tandem Mass Spectrometry (ID-LC-MS/MS)

R.M. BÜTTNER¹, F. MARTENS¹, M.T. ACKERMANS², M.A. BLANKENSTEIN¹, A.C. HEIJBOER¹

Endocrine laboratory, Department of Clinical Chemistry, VU University Medical Center, Amsterdam, the Netherlands¹; Department of Clinical Chemistry, Laboratory of Endocrinology, Academic Medical Center, Amsterdam, the Netherlands²

Introduction: The adrenal and gonadal androgens testosterone, androstenedione and dehydroepiandrosterone (DHEA) play an important role in sexual development and fertility as well as in several other processes. We developed a method to assess serum testosterone, androstenedione and DHEA levels in one

run using Isotope-Dilution Liquid-Chromatography Tandem Mass Spectrometry (ID-LC-MS/MS).

Method: Sample preparation consisted of addition of internal standards (13C3-testosterone, 13C3- androstenedione and 2H6-DHEA) and a liquid-liquid extraction using hexane-ether.

The samples were analyzed on an Acquity 2D UPLC system (Waters), equipped with a C4 column (Waters) and a Kinetex Fluorophenyl column (Phenomenex), and a Xevo TQ-S tandem mass spectrometer (Waters).

Result: The intra-assay CVs were <4%, <4.6% and <6.2% for testosterone, androstenedione and DHEA, respectively. The inter-assay CVs were <7% for testosterone and androstenedione and <9.3% for DHEA. At the lower concentrations inter-assay CVs were 9%, 7% and 9.3%, for testosterone (0.08 nM), androstenedione (0.48 nM) and DHEA (1.18 nM), respectively. Recoveries of spiked analytes were 101-107% and 97-106% for testosterone and androstenedione, respectively. Linearity was shown in

dilution series (mean r^2 was >0.999 for all analytes). This method tested negative for interference from several steroids. The present testosterone method compared well ($y = 1.000x + 0.035$ nmol/L; $r = 0.9982$) to another ID-LC-MS/MS method for testosterone in our lab. The latter method being concordant with a published reference method (Bui et al. 2013). In the near future, the present method will also be compared to another LC-MS/MS method for androstenedione and DHEA.

Conclusion: We developed a sensitive and accurate method to measure serum testosterone, androstenedione and DHEA serum levels in one run.

29. Development of a highly sensitive semi-automated LC-MS/MS method for the quantitative determination of 7 α -hydroxy-4-cholesten-3-one in human plasma

C.P. van der LEY¹, H.J.R. van FAASSEN¹, A.K. GROEN², I.P. KEMA¹

Department of Laboratory Medicine and Department of Pediatrics², University Medical Center Groningen, Groningen

Introduction: 7 α -hydroxy-4-cholesten-3-one (C4) is known to be a surrogate biomarker for hepatic bile acid synthesis in humans. Therefore, we aimed to develop a sensitive LC-MS/MS method for the quantification of C4 in human plasma samples which would enable high throughput and at the same time has good reproducibility and high specificity.

Methods: Sample pre-treatment consisted of addition of deuterium labelled C4 (C4-d7, Toronto Research Chemicals) as an internal standard, followed by a simple acetonitrile protein crash. Subsequently 5 μ L plasma equivalent was injected into the automated solid-phase extraction system (Spark Holland). On-line SPE cartridges containing C8-sorbent (Spark Holland) were used. Reversed phase chromatography was applied using an XBridge RP18-column (Waters). Mass spectrometric detection was performed in selective reaction monitoring mode, using a quadrupole tandem mass spectrometer (Quattro Premier,

Waters) with positive electrospray ionization.

Results: Total run-time including on-line SPE was 10 min. Intra- and inter-assay analytical variation were <3%. Linearity in the 0-550 nmol/L calibration range was excellent ($r^2 > 0.99$). Quantification limit was 0.5nmol/L and no interferences were detected.

Conclusion: We have developed a sensitive and specific method for the mass spectrometric detection of C4 in human plasma. As this method is semi-automated and requires no laborious manual sample preparation, large sample sizes are facilitated. Currently clinical studies are underway using C4 analysis as part of their protocol.

Literature: Vrieze A. et al. Vancomycin decreases insulin sensitivity and is associated with alterations in intestinal microbiota and bile acid composition in obese subjects with metabolic syndrome. *J Hepatol.* 2013.

30. Sporenmetalen analyse met behulp van Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (ICP-MS): validatie en implementatie binnen het Klinisch Chemisch Laboratorium

M. BROER, H.J. WANSCHERS, R.G.H.J. MAATMAN
Medlon, Enschede

Inleiding: Sporenmetalen analyse wordt binnen de industriële wereld standaard uitgevoerd middels ICP-MS. Om beter voorbereid te zijn voor sporenmetalen analyse in de toekomst is binnen Medlon ook gekozen voor ICP-MS. De introductie en validatie van de ICP-MS wordt beschreven in deze poster.

Methode: Voor de validatie van o.a. Al, As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Se, Tl en Zn in bloed en urine werden het EP5, EP6, EP9 en EP17 protocol gevolgd. Na het starten van de routinematige analyse van sporenmetalen met behulp van ICP-MS werd de kwaliteit gevolgd door deelname aan externe kwaliteitscontrole van de UK NEQAS.

Resultaat: Introductie van de ICP-MS techniek vraagt om aanpassingen in het laboratorium en vereist het gebruik van zeer zuivere chemicaliën. Validatie en implementatie van analyses vraagt verschillende maanden. Na ingebruikname wordt de

productie in aanzienlijk kortere tijd uitgevoerd. Alle analyses lieten zeer goede variatie coëfficiënten zien. Het lineaire bereik van de analyses is zeer groot en de techniek maakt het nauwkeurig meten van zeer lage concentraties mogelijk. Deelname aan externe kwaliteiten rondzendingen liet een duidelijke verbetering zien.

Conclusie: Validatie en implementatie van de ICP-MS techniek binnen het klinisch chemisch laboratorium is een tijdrovend project. Na ingebruikname kunnen sporenmetalen analyses met een hogere kwaliteit en efficiency worden gemeten.

Literatuur: Vanhoe. A review of the capabilities of ICP-MS for trace element analysis in body fluids and tissues. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis.* 1993;7(3):131-9.

31. An explorative study towards rapid phenotype hemoglobin screening by high resolution mass spectrometry on intact proteins in whole blood

F. HELMICH^{1,2}, J.L.J. van DONGEN¹, H.L. VADER^{1,2}, L. BRUNSVELD¹, P.H.M. KUIJPER²

Eindhoven University of Technology¹, Department of Chemical Biology, Eindhoven, The Netherlands, Máxima Medical Centre², Laboratory for Clinical Chemistry and Haematology, Veldhoven, The Netherlands.

Introduction: Given the resolution/sensitivity of modern mass spectrometers we explore the possibility to differentiate and quantify intact proteins. Rather than the analysis of small molecules or protein digestives, we refrain from any sample

preparation and analyze hemoglobin by direct injection of lysed RBC's in an ESI-Q-TOF setup. We compare results obtained by HPLC of healthy patients and subjects with hemoglobinopathies and thalassemias.

Methods: A 5-step optimization study was performed for appropriate conditions in buffering, injection, ionization, mass acquisition and spectral deconvolution. The mass distributions of the α - and β -chain and the α/β -intensity ratio were deduced from a 50-donor population serving as a reference. After HPLC measurements, patient samples were analyzed by MS, in which the α/β -intensity ratio was used as a screening parameter. Deviations herein were rationalized by the presence of other peaks than α and β (hemoglobin variants; confirmed by HPLC) or low abundance of α/β -globulins (thalassemia; confirmed by HPLC/DNA).

Results: Unlike the within-run precision, an EP-15 revealed poor within-lab precision for the α/β -intensity ratio, while nar-

row mass distributions were obtained in any case for α and β . Normal distributions were found for the α/β -masses and the α/β -intensity ratio of the donor population, yet the resulting reference did not match the patient population due to poor precision. Mass deviations from patient samples outside the reference interval revealed the presence of different hemoglobin variants as confirmed by HPLC.

Conclusion: The mass resolution of this modern ESI-Q-TOF setup is sufficient to differentiate globulin proteins with mass differences up to 1 Da. However, quantitative measurements by the α/β -intensity ratio remain difficult; investigations after ion suppression, sample contamination and the possible need for an internal standard are underway.

32. Mass spectrometric characterization of cardiac troponin T fragments in human serum following myocardial infarction

A.S. STRENG, D. de BOER, M.P. van DIEIJEN-VISSER, W.K.W.H. WODZIG

Central Diagnostic Laboratory, Maastricht University Medical Centre, Maastricht, The Netherlands

Introduction: Cardiac troponin T (cTnT) is an important biomarker for the diagnosis of acute coronary syndromes like acute myocardial infarctions (AMI) and myocardial ischemia. Previous research suggested that cTnT is present predominantly in fragmented forms in human serum, although final proof is still under debate. We further investigated the existence of these fragments in vivo and in vitro using mass spectrometry (MS) and tried to identify cleavage sites on cTnT using in vitro experiments.

Methods: Recombinant cTnT was spiked in cTnT-negative human serum at a concentration of 1 mg/L and incubated for up to 48 hours at 37° C to induce in vitro fragmentation. cTnT and cTnT-fragments were isolated from serum using an immunoprecipitation technique employing the 'M11.7' catcher antibody by Roche diagnostics and separated by SDS-PAGE. Coomassie stained bands at 37, 27, 18 and 16 kDa were excised from the

gel and digested with trypsin. Protein digests were analysed using high resolution LC-MS/MS. Western blotting of a duplicate gel using the Roche 'M7' detection antibody was applied to visualize cTnT bands.

Results: The western blot showed cTnT fragmentation bands similar to those seen in AMI-patients. cTnT was identified in all excised protein bands using MS/MS. In total 126 unique cTnT peptides were identified with total sequence coverage of 80.9%. Sequence coverage in the 37, 27 and 16-18 bands were 78.5%, 50.2% and 13.1%, respectively, based on the full cTnT sequence. In addition, semi-tryptic peptides suggested possible sites of proteolytic cleavage.

Conclusion: We have proved the in vitro formation of cTnT fragments in human serum. Likely proteolytic cleavage sites differ from consensus sites and are currently being validated. Similar experiments are being performed on AMI-patient serum.

33. Serum aldosterone measurement by liquid chromatography-tandem mass spectrometry

J.M.W. van den OUWELAND, A. IJPELAAR, L. TAX, A. BEIJERS, H. van DAAL

Canisius Wilhelmina Ziekenhuis, Klinisch Chemisch Laboratorium, Nijmegen

Introduction: Aldosterone is a mineralocorticoid steroid hormone whose measurement is critical to the screening and diagnosis of primary aldosteronism. Mass spectrometry offers a means to overcome problems with (radio)immunoassays, as these assays lack specificity from potential interference from structurally related steroid hormones. We have developed a novel, sensitive and specific method for the quantitation of aldosterone from human serum by UPLC-MS/MS

Methods: Standards, quality controls and samples (500 μ L) were extracted using ethylacetate, reconstituted in water and applied to Oasis® HLB cartridge and reconstituted in 125 μ L 25% MeOH solution. 10 μ L was injected onto a Acquity UPLC BEH C18, 50 mm \times 2.1 mm, 1.7 μ m column with methanolic mobile phase gradient elution. We detected selected reaction monitoring (SRM) transitions of m/z 359.0 > 189.1 for aldosterone and 366.0 > 338.3 for d7-aldosterone respectively, using a

Waters® Xevo TQS tandem mass spectrometer operating in electrospray negative mode. Aldosterone and internal standard eluted at 4.02 min. Accuracy was determined by analysis of specimens with GCMS certified aldosterone values (n=3; RFB, Bonn, Germany). A preliminary method comparison was performed with another independently developed LC-MS/MS method (Vancouver, Canada).

Results: lower limit of quantitation was 30 pmol/L. Intra- and inter-assay imprecision were <10%. The assay was linear up to 3140 pmol/L. Deming regression comparison was UPLC-MS/MS = 0.98 LC-MS/MS + 15.4 ($r^2=0.990$; n=5).

Conclusion: We have developed a sensitive and specific method for the measurement of aldosterone from human serum. The method features a solid phase extraction procedure, highly selective column chemistry and short chromatographic run times.

Moleculaire biologie

34. Improved pre-analytical process for RNA isolation from whole blood samples

M.L.P. LANGELAAN, J. DYLLUS, E. BOCK, B.J.A. JONGEN, A.A.M. MERTENS, M.T.M. RAIJMAKERS

Department of Clinical Chemistry and Hematology, Atrium Medical Center, Heerlen, The Netherlands

Introduction: Molecular diagnostics is becoming an important diagnostic tool in clinical hematology and oncology. Despite extensive experience for DNA extraction, procedures for RNA

isolation are still difficult to implement in non-academic laboratories. The rapid decay of RNA in standard EDTA blood tubes and logistic problems are the major causes of hampered

implementation. In this pilot study we compared protocols for RNA isolation from novel PAXgene blood collection tubes (PreAnalytix (Qiagen)) and standard K2-EDTA tubes.

Methods: Whole blood was drawn from healthy volunteers and volunteering patients with a hematological malignancy. RNA was extracted at baseline and after storage of blood samples for up to 5 days at 4°C, using blood collected in PAXgene tubes (with the corresponding RNA isolation kit (Qiagen)) as well as EDTA tubes with the QIAamp RNA blood mini kit (Qiagen). We compared both collection procedures for RNA yield and quality.

Results: Results for RNA yield and quality, normalized for leukocyte count, showed that PAXgene blood collection tubes

and corresponding isolation procedures were superior to the standard Qiagen isolation procedures from EDTA blood. PAXgene tubes resulted in sufficient RNA yields even after 5 days of storage at 4°C, whereas EDTA tubes did not result in adequate yields even at baseline. Normalized RNA concentrations were $27,0 \pm 6,2$ and $5,8 \pm 1,4$ ng/ μ l after 5 days of storage in PAXgene and EDTA tubes respectively.

Conclusion: A higher quality pre-analytical process for RNA isolation was achieved when PAXgene blood collection tubes were used and these are therefore recommended for future use. The 10-fold higher price that has to be paid for these tubes is counter balanced by a more efficient logistic process, less personnel costs and a high-quality end product.

Overigen

35. Klinische en technische validatie van verschillende ELISA's voor de detectie van antistoffen tegen Intrinsic factor en Pariëtale cellen bij auto-immuun ziekten van de maag

Z. RACHID, M.A.C.M. BRAKENHOFF, C.E.T. van der KROFT, I.A. HAAGEN

Onze Lieve Vrouwe Gasthuis, Hematologisch Klinisch Chemisch Laboratorium, Amsterdam

Inleiding: Pernicieuze anemie (PA) en auto-immuun gastritis kunnen het gevolg zijn van een auto-immuun ziekte. Het bepalen van antistoffen tegen intrinsic factor (IF) en/of tegen pariëtale cellen (PC) kan een aanvulling zijn bij de diagnostiek. Intrinsic factor is nodig voor de opname van vitamine B12 uit het voedsel en de dunne darm. Antistoffen tegen IF kunnen de opname van vitamine B12 verstoren en zo PA veroorzaken. Antistoffen tegen PC zijn gericht tegen de H/K-ATPase. Auto-immuun gastritis ontstaat door destructie van de pariëtale cellen waardoor ze niet meer in staat zijn intrinsic factor te produceren. Deze studie beschrijft de validatie van diverse ELISA's tov de kliniek en huidige methode oa immunofluorescentie.

Methode: ELISA's voor evaluatie per te bepalen antistof: a) antistoffen tegen IF: 1. EUROIMMUN, Biognost, België, antigeen uit maagslijmvlies van een zwijn; 2. INOVA, Werfen Group, San Diego, USA, antigeen is recombinant humaan IF. b) antistoffen tegen PC: 1. EUROIMMUN, Biognost, antigeen

H/K-ATPase uit maagslijmvlies van een zwijn; 2. INOVA, Werfen Group, H/K-ATPase uit maagslijmvlies van een varken. Patiënten (-sera, n=98) zijn deels geselecteerd op basis van de aanwezigheid van antistoffen.

Resultaat: Antistoffen tegen intrinsic factor: Beide ELISA's, EUROIMMUN en INOVA, hebben een goede concordantie met de aanwezigheid van kliniek, respectievelijk 82% en 88% (n=17, verwachting $\pm 85\%$). Met monsters uit SKML rondzendingen is de concordantie voor beide ELISA's 100% (n=13). Antistoffen tegen pariëtale cellen: Beide ELISA's hebben een concordantie van 100% met de immunofluorescentie test bij Sanquin en de SKML monsters.

Conclusie: De specificiteit van de geteste ELISA's voor de detectie van antistoffen tegen intrinsic factor en pariëtale cellen is in onze patiëntengroep vergelijkbaar met die van het verzendlab en vertonen een goede concordantie met de kliniek. De ELISA's kunnen geautomatiseerd uitgevoerd worden.

Dienstverlening, doorlooptijden, work flow analyse

36. Geavanceerd nummeringsysteem: wachttijd voor bloedafname onder controle

J. KLEIN GUNNEWIEK¹, G. JONKER^{1,2}

Ziekenhuis Gelderse Vallei, Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium¹, Medisch Microbiologisch Laboratorium², Ede

Inleiding: Voor een bloedafname in Ziekenhuis Gelderse Vallei moest een patiënt tweemaal wachten. Eenmaal om zich te melden aan de balie alwaar het onderzoek werd ingelezen en etiketten werden gegenereerd. Daarna nam de patiënt plaats in de wachtkamer. Dit was niet aangenaam voor de patiënt maar ook niet voor de bloedafname medewerkers. Immers, bij een moeilijke of uitgebreide aanvraag groeide de rij voor de balie al snel.

Methode: De patiënt neemt een volgnummer door een keuze te maken (o.a. regulier, spoed, huisarts, POCT) en neemt plaats in de wachtkamer. Nadat het nummer verschijnt op het scherm meldt de patiënt zich bij de aangegeven prikkamer. De bloedafname medewerker meldt het aangevraagde bloedonderzoek aan en voert de venapunctie uit. Het volgnummersysteem rekent met verschillende wachttijden. Een reguliere bloedafname kent een maximale wachttijd van 10 minuten en een cito bloedafname van 5 minuten. Indien een reguliere patiënt al 9 minuten

wacht en een cito patiënt 2 minuten dan gaat de reguliere patiënt voor. Op deze manier 'ritst' het systeem de patiënten.

Resultaat: Zowel patiënten als medewerkers zijn tevreden met de nieuwe bloedafname. Men hoeft na het trekken van het volgnummer slechts eenmaal te wachten. Doordat alle handelingen in de prikkamer worden uitgevoerd kan de medewerker meer tijd en rust voor de patiënt nemen. Het ingenieuze volgnummersysteem zorgt voor een eerlijker verdeling van de wachttijd. De gemiddelde tijd die verstrijkt vanaf het trekken van een nummertje tot en met het verlaten van de prikkamer bedraagt 8 min.

Conclusie: Met de introductie van een nieuw nummersysteem hoeft de patiënt nog maar eenmaal te wachten, wordt ingenieus omgegaan met de patiëntenstroom en kan de bloedafname medewerker in alle rust de aanvraag verwerken en de bloedafname uitvoeren.

37. Onderzoek naar het voorkomen van dubbele diagnostiek bij verwijzing van de 1ste-lijn naar de 2de-lijn

D. van LOON¹, O. LAGEMAAT², A.M.J. KOIJMAN - BUITING²

Klinisch Chemisch Laboratorium¹, Sint Antonius Ziekenhuis, Nieuwegein en Huisartsenlaboratorium SALTRO², Utrecht

Inleiding: Het voorkomen van dubbele diagnostiek bij verwijzing van 1ste-lijn (SALTRO) naar 2de-lijn is onderzocht voor de klinische chemie in het Sint Antonius Ziekenhuis. Dit naar aanleiding van publicaties waarin melding wordt gemaakt van veel onnodige diagnostiek. Het voorkomen van dubbele diagnostiek bleek minder dan 0,5% te zijn.

Methode: Na een juridische toets is de productie van klinisch chemische diagnostiek binnen het Sint Antonius in Q2 van 2013 vergeleken met de klinisch chemische diagnostiek verricht in het SALTRO op basis van voorkomen van gelijke bsn binnen een tijdsframe van 7 dagen (eerst 1ste-lijn daarna 2de-lijn) op verrichtingen niveau. De productiebestanden zijn geëxporteerd uit GLIMS, respectievelijk Labosys.

Resultaat: In Q2 van 2013 zijn 36162 bsn nummers (patiënten) geregistreerd in het GLIMS van het Sint Antonius Ziekenhuis (693316 verrichtingen) waarvan 4685 (13%) bsn nummers ook werden aangetroffen in het bestand van het SALTRO over

dezelfde periode. Van deze 4685 bsn nummers is binnen 7 dagen diagnostiek uitgevoerd binnen de beide instellingen (1ste-lijn vervolgens 2de-lijn, wat neerkomt op 2% van de productie). Hiervan is bij 572 patiënten een overlap aan diagnostiek op verrichtingen niveau (0,5% van de productie). De top 10 van deze verrichtingen betrof creatinine, hemoglobine, leucocyten, trombocyten, kalium, natrium, glucose, bilirubine, CRP en ALT bepalingen. De totale waarde van de dubbele diagnostiek gedurende Q2 in 2013 op basis van NzA vergoedingen tarieven komt neer op € 8374. Bij 105 patiënten werd dezelfde dag doorverwezen van de 1ste-lijn naar de 2de-lijn waarbij in totaal 560 testen dubbel voorkwamen.

Conclusie: Het voorkomen van (onnodige) dubbele klinisch chemische diagnostiek binnen de productie omgevingen van het Sint Antonius Ziekenhuis en het SALTRO in Q2 van 2013 is zeer beperkt.

Point-of-care testing

38. Kwaliteit van elf merken zwangerschapsthuistesten

P. VERSCHUURE, R. van de VEN - de WIN, D. TELTING
St. Anna Ziekenhuis, Geldrop

Inleiding: In opdracht van de NVKC/KNMP/NVZA werkgroep zelftesten in samenwerking met de consumentenbond zijn elf merken zwangerschapsthuistesten uitgetest. De thuish testen bevatten een absorberend gedeelte en een afleesvenster en zijn, voor zover bekend, gebaseerd op een immunochemische reactie met het hormoon humaan choriogonadotropine (hCG). Dit hormoon wordt al vroeg in de zwangerschap aangemaakt en uitgescheiden in de urine. Uit literatuur blijkt dat de mediane hCG concentratie in een urineportie op de dag van de verwachte menstruatie circa 50 U/l is, maar met een enorme spreiding tussen individuen. De merken thuish testen uit dit onderzoek claimen een gevoeligheid tussen 10 en 25 U/l, voor zover

genoemd. Het doel van dit onderzoek is de verschillende merken testen onderling te vergelijken met de nadruk op de gevoeligheid.

Methode: De volgende merken zijn getest: Clearblue Digital, Clearblue Plus, Etos, Exacto[®] Ultra, Kringapothek, Kruidvat, Mat Care Zwangerschapstest Ultra, Mediq Apotheek, Predictor[®], Predictor[®] Early en Samenwerkende Apothekers[®]. Van elk merk zijn het omslagpunt en de reproduceerbaarheid vastgesteld met behulp van verdunningsreeksen van positieve urine's. Daarnaast is het gebruiksgemak beoordeeld en de compleetheit van de verpakking en bijsluiters met behulp van een checklist op basis van ISO18113

Resultaat: Uit dit onderzoek komt de Exacto Ultra als beste uit de test. Deze test is het gevoeligst en makkelijk in gebruik. Nadeel is dat deze test geen Nederlandstalige verpakking en bijsluiters heeft. Qua gebruiksgemak is de Clearblue Digital te adviseren, omdat het resultaat als tekst wordt weergegeven.

Qua gevoeligheid zijn de Clearblue Plus en Mat Care Zwangerschapstest Ultra alternatieven voor de Exacto Ultra.

Conclusie: Er zijn grote verschillen in gevoeligheid en gebruiksgemak tussen de verschillende zwangerschapstesttesten.

39. POCT met behulp van de INRatio meter: gebruik van de eerste of tweede druppel bloed

E.H.J.M. KEMNA, W. JENTINK, I.G.M. te MOLDER - te BRAKE

Streekziekenhuis Koningin Beatrix, Klinisch Chemisch Hematologisch Laboratorium, Winterswijk

Inleiding: Point-of-care apparatuur wordt steeds vaker ingezet binnen het analyse pakket van het laboratorium. Heldere instructies zijn voor goed gebruik onontbeerlijk. De vraag of de eerste of tweede druppel bloed uit de vinger gebruikt dient te worden is vanuit de literatuur maar beperkt onderbouwd (1, 2). De fabrikant van de INRatio meter geeft aan altijd de eerste druppel te nemen voor analyse. Met behulp van de INRatio meter van Alere is de validiteit van deze stelling voor de POCT INR meting onderzocht.

Methode: Bij ruim 40 trombosedienst patiënten is tijdens de reguliere veneuze INR controle tevens tweemaal een vingerprik uitgevoerd waarbij de eerste en tweede druppel zijn geanalyseerd met de INRatio meter. Alle metingen zijn met dezelfde meter, hetzelfde striplotnummer en door dezelfde afnamemedewerker uitgevoerd.

Resultaat: Binnen een range van 1,5 tot 4,5 INR is de correlatie

tussen de eerste en tweede druppel waarde 0,960 met een regressie van $y=1,01x+0,017$ ($n=40$). De eerste druppel geeft in vergelijking tot de veneuze waarde een correlatie van 0,930; de tweede druppel een correlatie van 0,928. Exclusie van 5 patiënten was op basis van te hoge hematocriet waarde ($n=1$), zeer moeizame capillaire afname ($n=1$) of verschil tussen veneuze waarde en beide capillaire waarden van $>20\%$ ($n=3$).

Conclusie: Gesteld kan worden dat er geen significant verschil is in INR waarde tussen de eerste en tweede capillaire bloeddruppel en dat beide druppels goed correleren met de veneuze INR waarde. Voor uniformiteit in uitvoering van verschillende POCT analyses kan voor de INR meting ook volstaan worden met de tweede druppel.

Literatuur: Beinema et al. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2004;29:268-269. Hortensius et al. Diabetes Care 2011;34:556-560.

40. Evaluation POC creatinine analyser for the use in resource-limited settings

W. de KIEVIET¹, C. KOSACK², A.L. PAGE³, K. BAYRAK¹, A. MILOVIC¹, H.A. HENDRIKS¹

Sint Lucas Andreas Hospital¹, Clinical Laboratory, Amsterdam, The Netherlands, Médecins Sans Frontières International², Amsterdam, The Netherlands, Epicentre³, Paris, France.

Introduction: Médecins Sans Frontières (Artsen zonder Grenzen) operates in resource-limited and decentralized settings often without laboratory facilities. In HIV projects, potentially toxic renal drugs are in use leading to the demand for point-of-care creatinine analysers. Three Nova StatSensor iXpress POC Creatinine analysers were evaluated to monitor renal function.

Methods: The performance of the POC creatinine analysers has been evaluated after establishing the stability for heparin blood samples, by assessing the precision (reproducibility within and between run), linearity and accuracy. The reference method was the creatinine amidohydrolase-sarcosine-peroxidase slide method of the Ortho Clinical Diagnostics Vitros 5,1FS. Blood samples for the evaluation were taken from patients and volunteers at the Sint Lucas Andreas Hospital, Amsterdam, The Netherlands after informed consent.

Results: Creatinine is stable in heparin blood samples for 4

hours. The three POC creatinine analysers showed acceptable to good results for within (CV 4.1%) and between (CV 5.8%) run reproducibility. When comparing with the reference method good concordance correlation coefficient (0.996) was found, but the accuracy for patient specimens (up to 600 $\mu\text{mol/L}$) determined by the Bland Altman analysis showed calculated total errors beyond the recommended 8.9% for normal and low pathological creatinine levels.

Conclusion: Nova StatSensor iXpress POC creatinine analyser was found reliable. Although the accuracy was not equivalent to that of the reference method, the test was found sufficiently accurate for the purpose of monitoring renal function in patients (age >10 yrs) in settings where the reference method is not available. Creatinine values of 100-130 $\mu\text{mol/L}$ have to be rechecked by a conventional method.

41. Nauwkeurigheid en precisie van drie POCT INR meters

C.S. DEBETS, J. van PELT

MCA, Laboratorium KCHI, Alkmaar

Inleiding: Momenteel bezitten meer dan 25000 mensen in Nederland een INR meter voor zelfmonitoring onder begeleiding van een Trombosedienst. Monopolist is Roche met de Coagucheckmeters. Andere firma's willen ook op de markt komen. In deze studie wordt de performance van twee nieuwe meters vergeleken met die van de Coagucheck.

Methode: In totaal 80 trombosedienst patiënten die voor de veneuze INR bepaling de polikliniek bezochten werd gevraagd of er 2x een POCT bepaling met vingerprikbloed uitgevoerd mocht worden. De drie geteste meters zijn de Coagucheck XS van Roche, de INRatio2 van Alere en de Protime InRhythm van ITC. Per apparaat werd bij ongeveer 15 patiënten in duplo

een INR bepaling verricht uit twee vingerprikbloedjes. Bij 15 patiënten werd het methodevergelijk uitgevoerd met de Coagucheck en de INRatio2 en bij 15 andere met de Coagucheck en de Protime InRhythm. Vooraf werd vastgesteld dat de gemiddelde afwijking tot de laboratorium methode $<10\%$ moest bedragen. Dezelfde eis is gesteld aan het gemiddelde verschil tussen de duplo's. De INR in de veneuze afnames werd bepaald met een ACL TOP methode.

Resultaat: Uit de duplo metingen kon het gemiddelde verschil tussen de duplo's bepaald worden (VC) en de afwijking ten opzichte van de laboratoriummethode. Uit het methodevergelijk tussen twee verschillende POCT apparaten werd de

afwijking ten opzichte van de laboratoriummethode bepaald (D). Coagucheck VC=2,3%, D=8,8 %; INRatio 2 VC=8,4%, D=10,2 %; Protime InRhythm VC=2,9%, D=11,3%.
Conclusie: De Coagucheck voldoet aan de eisen en bevestigt

daarmee eerdere kwalitatieve onderzoeken. De nieuwe Protime InRhythm geeft vergelijkbare resultaten en lijkt daarvoor ook geschikt als POCT methode voor monitoring van de INR. De INRatio heeft een grotere VC tussen de duplo's.

42. Nauwkeurigheid en precisie van drie POCT D-dimeren meters

W.H.A. de JONG, R. BALTUS, J. van PELT
MCA, Laboratorium KCHI, Alkmaar

Inleiding: Volgens de NHG-standaard diep veneuze trombose (DVT) kan de huisarts een DVT bij een bepaalde patiëntenpopulatie uitsluiten door gebruik te maken van een eerstelijns-beslisregel. Deze berust op gegevens uit de anamnese, het lichamenlijk onderzoek én de uitslag van een D-dimeren bepaling. Belangrijk hiervoor is een snelle en betrouwbare D-Dimeren bepaling. Momenteel wordt veelal een teststrip gebruikt, de Clearview Simplify D-dimer[®] test. Er zijn ook verschillende POC apparaten ontwikkeld voor D-dimeren-bepaling waarvan er in deze studie drie gevalideerd zijn.

Methode: De geteste POC apparaten zijn de SMART Eurolyser (Eurolyser Diagnostica), de Pathfast (Mitsubishi Chemical Medicine Corporation) en de i-CHROMA (Boditech Med Inc). Voor de precisie zijn plasmamonsters in twee concentraties gedurende 20 dagen 2x per dag in duplo geanalyseerd (EP5). Hierbij is als eis de door de firma's opgegeven VC gesteld. Voor

methodevergelijk met de laboratoriummethode ACL-TOP (Beckman-Coulter) volgens EP9 zijn 80 monsters in de range tussen 80 en 16000 ng/mL in duplo bepaald met de drie POC instrumenten en de ACL-TOP (EP9).

Resultaat: Zowel de iChroma (VC<10%) als de Pathfast (CV<7,1%), maar niet de Eurolyser (CV>>9%) voldoen aan de vooraf gestelde eis voor precisie. Wat betreft methodevergelijk was de helling $\neq 1$ voor alle drie de methoden vergeleken met de ACL-TOP methode. Bovendien was de intercept $\neq 0$ voor de Eurolyser en vertoont de vergelijking met de Pathfast veel outliers. De correlatie is bij alle drie de methoden $\ll 0,95$.

Conclusie: De Pathfast, de iChroma en de Eurolyser zijn niet bruikbaar als POC apparaat voor de D-Dimeren bepaling. Er wordt niet voldaan aan alle vooraf gestelde criteria. Met name opvallend zijn de significante verschillen in methodevergelijk tussen de apparaten onderling en met de laboratoriummethode.

43. Nauwkeurigheid en precisie van vier POCT HbA1c meters

W.H.A. de JONG, R. BALTUS, J. van PELT
MCA, Laboratorium KCHI, Alkmaar

Inleiding: De bepaling van het HbA1c dient als controle van de glucose instelling bij diabetespatiënten. In de meest recente Amerikaanse richtlijnen is HbA1c ook opgenomen als marker voor de diagnose van diabetes (>47,5 mmol/mol). Echter voor diagnostiek en monitoring is een kwalitatief goede laboratorium-techniek nodig en POC assays met een hoge variabiliteit zijn niet bruikbaar.

Methode: De vier geteste POCT apparaten waren de SMART Eurolyser (Eurolyser Diagnostica), de i-CHROMA (Boditech Med Inc), de Hemocue HbA1c (Radiometer) en de DCA Vantage (Siemens). Precisie is getest met behulp van een aangepast EP20 protocol (3x per dag een laag en hoog monster in duplo) vanwege de beperkte houdbaarheid van volbloed (n=40). De eis voor de totale CV is <3,0% bij lage en hoge concentratie

bij meting in % en <4,8% resp. <4,0% bij meting in mmol/mol.

Resultaat: De eis met betrekking tot precisie werd door geen van de apparaten voor beide controles gehaald. De DCA en i-Chroma voldeden met het lage monster en de Eurolyser met het hoge monster, allen zowel uitgedrukt in % als mmol/l. De eis m.b.t. methodevergelijk (helling gelijk aan 1 (binnen 95% BI) en intercept gelijk aan 0 (95% BI)) werd gehaald door de Eurolyser en de DCA. Deze methodes vertoonden ook de kleinste CV tussen de duplo's en de hoogste correlatie coëfficiënten (0,99).

Conclusie: De Eurolyser en de DCA kunnen worden ingezet als POC HbA1c meters in de huisartsenpraktijk. Er is geen significant verschil met de laboratoriummethode en de precisie rond het klinisch beslispunt voldoet aan de eis van de IFCC.

44. Validation of Point of Care ketone testing with NOVA Statstrip and Abbott Freestyle meters

N. BROUWER, F. TEGELAERS

Medical Centre Alkmaar, Laboratorium for Clinical Chemistry, Haematology and Immunology, Alkmaar, The Netherlands

Introduction: Rapid analysis of ketones in human blood is important in the monitoring of lipolysis in new or known (paediatric) diabetes mellitus type-1 patients with hyperglycaemic crises. An increased blood ketone level causes a decrease in blood pH and may lead to ketoacidotic coma. An accurate and precise POCT instrument may provide a rapid result. In this study the analytical performance of two handheld ketone meters was assessed.

Methods: The NOVA StatStrip glucose/ketone connectivity meter (Nova Biomedical), and Freestyle optium beta-ketone-meter (Abbott Laboratories) were compared to a standard photometric beta-ketone method (RANBUT, Randox Laboratories Ltd.). The latter assay was performed on a Beckman DxC800 in an EP9 study. Furthermore, a precision study (within day and day to day) and an haematocrit interference study (haematocrit concentration between 0.28 - 0.58) were performed.

Results: The within day coefficient of variation (CV) for the Statstrip controls with resp. 0.2, 0.6 and 2.4 mmol/L ketones was 0.0, 7.9 and 4.4%, and 0.0 and 2.8% for Freestyle controls with resp. 0.8 and 4.6 mmol/L ketones. The overall day to day CV was 2.6 and 6.3% with the Freestyle controls and 39.7, 15.0 and 11.6% with the Statstrip controls. Freestyle analysis was influenced by haematocrit variation (haematocrit levels of 0.58 underestimated ketone concentration with 20%). The Statstrip strips have haematocrit correction and showed no interference. The correlation of Randox with Statstrip was $y=1.05x-0.05$, $r^2=0.983$, while Randox with Freestyle was $y=1.23x-0.14$, $r^2=0.974$ (x being Randox).

Conclusion: Both POCT ketone instruments showed shortcomings in their analytical performance. However, Statstrip ketone meter showed a good correlation with the Randox ketone method, a good within day CV and had no haematocrit interference.

Kwaliteit, referentiewaarden

45. Kreatinine deltacheck voor het opsporen van nierfunctieverlies en (pre-)analytische fouten

J.M. GILLIS¹, P.W. SCHENK¹, C.M. COBBAERT¹, N. de JONGE²

Leids Universitair Medisch Centrum¹, Afdeling Klinische Chemie en Laboratoriumgeneeskunde, Leiden; Ziekenhuis Bronovo², Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium, Den Haag

Inleiding: Kreatinine-uitslagen kunnen afhankelijk van ziektebeeld en behandeling zeer sterk variëren. Foutieve uitslagen ten gevolge van (pre-)analytische problemen kunnen hierdoor gemakkelijk over het hoofd worden gezien. Wij onderzochten de bruikbaarheid van een deltacheck voor de tijdige signalering van (pre-)analytische fouten. Tevens bekeken we of de deltacheck bruikbaar is voor het signaleren van mogelijk klinisch significante kreatinine stijgingen bij getransplanteerde nierpatiënten, gezien het belang van een vroege detectie bij afstoting. Een deltacheck moet onderscheid maken tussen (patho)fysiologische veranderingen en (pre-)analytische fouten, een hoge efficiëntie hebben (verhouding aantal deltacheck-alarmen als gevolg van (pre-)analytische fout ten opzichte van totaal aantal deltacheck-alarmen) en tegelijkertijd niet tot een onnodige werklast leiden.

Methode: Kreatinine bepalingen worden uitgevoerd in serum (Vacutainer, clot activator tubes, 10 ml, Becton Dickinson) m.b.v. de enzymatische kreatinine assay op de Modular Analytics

P800 (Roche). Benodigd monstervolume is 4 µl. Voor de instelling van de deltacheck is de functionaliteit binnen het laboratorium-informatiesysteem GLIMS (versie 8.10.6; MIPS) gebruikt.

Resultaat: Voor de detectie van afnemende nierfunctie na niertransplantatie is in overleg met de nefrologen gekozen om automatisch een mail aan de aanvragend nefroloog te versturen bij een relatieve toename van serum kreatinine van 20%. Voor de detectie van (pre-)analytische verstoringen kozen we voor een relatieve deltacheck (positief of negatief) van 34% boven 100 µmol/l en een absolute deltacheck (toe- of afname) van 34 µmol/l onder de 100 µmol/l. Deze deltacheck gaf een optimale verhouding tussen detectie van mogelijke (pre-)analytische fouten en het confirmeren van fysiologische 'normale' kreatinine fluctuaties. Kreatinine uitslagen van de dialysepoli en studies zijn uitgesloten.

Conclusie: De deltacheck voor de serum kreatinine bepaling is een bruikbaar instrument voor tijdige detectie van nierfunctieverlies en mogelijke (pre-)analytische afwijkingen.

Human resource management

46. Scholing als katalysator voor organisatieontwikkeling

C.J.W. de SCHIPPER - VISSER¹, R. de NOOIJER², M. van SCHIE², C.M. COBBAERT¹

Leids Universitair Medisch Centrum, Afdeling Klinische Chemie en Laboratoriumgeneeskunde¹, Leiden. Hogeschool Leiden, Centrum Bioscience Diagnostiek², Leiden

Inleiding: In 2012 is in het LUMC een organisatieverandering ingezet met als doel om in 2015 te komen tot één diagnostisch 24-uurslaboratorium. Kernwaarden van het nieuwe personeelsbeleid zijn: streven naar kennis, kwaliteit, doelmatigheid en flexibiliteit van medewerkers. Vóór de organisatieverandering zijn analisten slechts werkzaam op één van de drie vakgebieden; na plaatsing op het kernlaboratorium dienen analisten breed inzetbaar te zijn en zowel 24/7 hematologie, bloedtransfusie als klinische chemie te beheersen.

Methode: Om de brede inzetbaarheid te bewerkstelligen is voor ca 70 analisten (inclusief hoofdanalisten), een verplicht training- en scholingsprogramma opgesteld. De 2-jaar theoretische scholing bestaat uit acht blokken van vier avonden klassikaal onderwijs, telkens afgesloten met een tentamen. De 2,5 jaar praktische crosstraining bestaat uit 'training on the job' op de deellaboratoria waarna de analisten structureel blijven rouleren. Ter ondersteuning en verbinding van theorie en praktijk zijn docenten van de Hogeschool twee dagen/week

gedetacheerd bij het LUMC. Ieder kwartaal wordt geëvalueerd. In november 2013 is een kwalitatief onderzoek naar de beleving van de crosstraining uitgevoerd.

Resultaat: 100 % van de circa 70 analisten is geslaagd (gem. score = 8,3). De praktische crosstraining wordt uitgevoerd volgens schema. De eerste breed inzetbare analisten zijn een feit. De analisten zijn daadwerkelijk geïnteresseerd in de vakinhoud en elkaar. De lange termijn doelstelling is gedurende het transitieproces iets naar de achtergrond verschoven en de ervaren werkdruk is hoog.

Conclusie: De theoretische en praktische scholing dragen inhoudelijk en vanwege het crossculturele effect, in grote mate bij aan de doelstelling van de organisatieverandering. Continu leren en veranderen is in deze transitieperiode, die doorloopt tot in 2015, een constante. Leiderschap, eenduidige, heldere communicatie en werkdrukmaatregelen zijn daarom essentieel.

Automatisering, dataverwerking

47. The influence of anti-hypertensive drugs on the aldosterone-to-renin ratio: an automated solution

M. van BERKEL, A.K. BOER

Clinical Laboratory, Catharina Hospital Eindhoven

Introduction: One of the initial landmarks in the diagnosis of primary hyperaldosteronism is the aldosterone-to-renin ratio (ARR). However, for an accurate interpretation of the ARR clinical and biochemical information such as blood pressure and potassium- and/or sodium concentration is essential. Furthermore, antihypertensive medication should be discontinued, which is often problematical for patients with resistant hypertension. Retrieval of above mentioned information from medical charts is time-consuming and complicated. Here, a clinical

decision support system (CDSS) is presented, which can be used to construct an automated interpretation of the ARR based on the electronic data available.

Methods: We retrospectively included 493 patients in which renin (Diasorin) and aldosterone (Siemens) was determined for diagnostic reasons. The medical charts were evaluated using CDSS Gaston (Medecs BV, Eindhoven).

Results: The CDSS retrieved information from the medical charts, and created a database including age, gender, aldosterone,

renin, potassium- and sodium concentration, anti-hypertensive drugs and diagnosis within 2-3 hours. The ARR in patients with severe hypertension was significantly higher than patients with mild hypertension at the time of diagnostic workup. Almost half of the ARR (46%) were determined while maintaining one of more antihypertensive drugs. The ARR in patients using calcium antagonists was similar to the ARR in the control group, whereas patients using beta blockers tend to

display higher ARR.

Conclusion: The CDSS is a very effective aid in the retrieval of data from medical charts. Furthermore, it can generate a context-dependent interpretation of the ARR, taken into account suboptimal sampling conditions, such as hypertension, use of anti-hypertensive drugs and high/low potassium. In conclusion, use of CDSS can improve clinical decision making in patients with resistant hypertension.

Overigen

48. Validatie van Sysmex XN hemocytometers in het st. Antonius ziekenhuis: een pragmatische aanpak

D.S. BOSS, C. HACKENG, D. van LOON

Klinisch Chemisch Laboratorium, St. Antonius ziekenhuis, Nieuwegein en Utrecht

Inleiding: In het st. Antonius ziekenhuis zijn onlangs nieuwe Sysmex hemocytometers geplaatst ter vervanging van de huidige Beckman apparatuur. Het betreft een XN-9000 op locatie Nieuwegein, en een XN-2000 op locatie Utrecht. Voor implementatie hebben we beide configuraties gevalideerd zoals hieronder beschreven.

Methode: Reproduceerbaarheid: Voor alle parameters zijn twee levels patiëntmateriaal in tienvoud bepaald. Gestelde grens: VCa dient kleiner te zijn dan de specificaties zoals opgegeven door de firma. Methodevergelijk: De XN-2000 is vergeleken met de Beckman analyzers. RCV waarden zijn berekend op basis van de VCa waarden zoals opgegeven door de firma: $RCV = z * (\sqrt{2}) * (\sqrt{cvi2 + cva2})$. Alle waarden van Sysmex dienden binnen de waarden van Beckman \pm RCV te vallen. Als tweede stap hebben we de Sysmex analyzers van beide locaties onderling vergeleken. De resultaten zijn tegen elkaar uitgezet in een regressie analyse. De toelaatbare afwijking

van de helling is berekend, uitgaande van de VCa waarden die opgegeven zijn door de firma: $1,96 * (\sqrt{2}) * VCa$.

Resultaat: Reproduceerbaarheid: Alle analyzers voldoen aan de gestelde criteria. In het vergelijk met de Beckman analyzers zijn er een aantal uitslagen die zijn afgekeurd. Dit is te verklaren door verschillen in meetmethodes, de verschillen waren al bekend uit rondzendingen. We accepteren deze afwijkingen en gaan 6 maanden na implementatie kijken of we de referentiewaarden van de betreffende parameters aan moeten passen. De kliniek wordt op de hoogte gesteld van de bevindingen. Het onderlinge vergelijk tussen XN-2000 en XN-9000 geeft alleen een te grote afwijking in de erythrocytelling. De firma zal dit bijstellen voordat we over gaan.

Conclusie: De resultaten van het validatie-onderzoek staan garant voor een verantwoorde overgang van Beckman apparatuur naar Sysmex apparatuur.

49. Cost minimization in the Intensive Care Unit: the added value of procalcitonin

M.M.A. KIP¹, R. KUSTERS^{2,3}, L.M.G. STEUTEN^{1,2}

Panaxea BV¹, Enschede, The Netherlands, Department of Health Technology and Services Research (HTSR)², University of Twente, Enschede, The Netherlands, Laboratory for Clinical Chemistry and Haematology³, Jeroen Bosch Hospital, 's-Hertogenbosch, The Netherlands

Introduction: Diagnosing sepsis remains challenging due to nonspecific presentation. Use of antibiotics to fight sepsis has led to great reductions in mortality and morbidity rates, but raises the problem of antibiotic overuse. Given limited health-care budgets, sound health-economic arguments should be considered in decisions about uptake of procalcitonin (PCT) measurement. Bloodmarker PCT is used to guide initiation and duration of antibiotic therapy in septic ICU patients, and might reduce duration of hospital stay. Systematic reviews show PCT-guided treatment to be safe and may improve clinical outcome. Yet, high cost of PCT compared to other laboratory assays remains an important barrier against implementation. It is thus hypothesized that uptake of PCT is not cost-effective in ICU patients with sepsis, compared to current practice.

Methods: We developed a health economic model, investigating costs and effects of PCT implementation in ICU patients with

sepsis. Input data were obtained from systematic literature review and expert opinions

Results: Model outcome suggests that PCT can reduce hospital spending by circa € 3800 per patient (-11%). Input data from a Dutch general hospital resulted in savings of almost € 4200 per patient (-12%). Savings are mainly due to shorter hospital length of stay, a decrease in blood cultures, and reduced duration of antibiotic treatment. Sensitivity analyses revealed the outcome is robust against changes in model inputs.

Conclusion: In conclusion, the hypothesis that PCT is not cost-effective is disproved shown by a health economic model concerning PCT uptake in a hospital setting. Additional costs of PCT are offset by downstream cost savings in hospitalization days, antibiotic use and blood cultures, without diminishing patient outcomes. This finding is highly important given the increase in antibiotic resistance.

50. Total Lab Automation: analisten werken vanuit een cockpit

J. KLEIN GUNNEWIEK¹, A. van GRIETHUYSEN², R. LAMMERS³, G. JONKER^{1,2}

Ziekenhuis Gelderse Vallei, Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium¹, Medisch Microbiologisch Laboratorium², Klinisch Farmaceutisch Laboratorium³, Ede

Inleiding: Van oudsher is het klinisch chemisch laboratorium onderverdeeld in diverse werkplekken. Meerdere analisten zijn verantwoordelijk voor een apparaat of een groep van apparaten. Hierdoor ontbreekt het totaaloverzicht ten aanzien van het routine analytische proces. Daarnaast is het klinisch chemisch labora-

torium doorgaans gescheiden van de laboratoria voor medische microbiologie en klinische farmacie. Met de introductie van een volledig geautomatiseerd routinelaboratorium voor chemie, immunochemie, serologie, medicijnspiegels, stolling, hemocytometrie en bezinking, verandert de werkwijze drastisch.

Methodie: Met Total Lab Automation (TLA) zijn diverse analytische apparaten (chemie, immunochemie, serologie, medicijnspiegels, stolling, hemocytometrie, bezinking) gekoppeld aan een volautomatische track. De koppeling van preanalyse aan analyse en postanalyse (automatische archivering en opslag bij 4°C) zorgt voor een closed loop met volledige track and trace van de bloedmonsters. De personele bezetting is aangepast aan deze nieuwe werkwijze. De regie wordt gevoerd vanuit een centrale plek met overzicht over het gehele proces (vereiste acties aan apparatuur, analyse, controles, confirmeren, doorbellen, monitoren van cito's), de cockpit.

Resultaat: Drie medewerkers zijn werkzaam aan de track. Een medewerker is verantwoordelijk voor het pre- en postanalytische gedeelte zoals het plaatsen van de buizen op de track.

Een analist zit in de cockpit. Deze analist vormt de spil in het analytische proces en beschikt hiervoor over 5 monitoren (onder andere cito, LIS, hemocytometrie, overzicht met stand van zaken van de aangesloten apparatuur). Een derde analist doet 'klussen' aan de track op aangeven van de cockpit analist. Conclusie: Door het werken vanuit de cockpit heeft de analist het overzicht over het totale analytische proces. De voortgang van de cito's wordt beter bewaakt. Het confirmeren en doorbellen gebeurt accuraat en zonder vertraging. De drie medewerkers werken als een team samen.

Hart- en vaatziekten, atherosclerose

51. Cardiopulmonary bypass procedure induces extracellular red blood cell vesicle formation

K.M.K. de VOOGHT¹, G. ANDRINGA¹, C. LAUI, R. HUISJES¹, M.A. de JONG², T-J. van LAAR², R. van WIJK¹, W.W. van SOLINGE¹, R.M. SCHIFFELERS¹

Department of Clinical Chemistry and Haematology¹, and Division of Heart & Lungs², University Medical Center Utrecht, Utrecht, The Netherlands

Introduction: The cardiopulmonary bypass procedure (CPB) is hypothesized to be a major stressor for erythrocytes. Aim of this study is to investigate if contact with exogenous surfaces, pumps, and buffer solutions in CPB induces erythrocyte vesiculation.

Methods: Patients' CPB residue collected from the heart-lung machine at the end of the operation was anonymously processed in experiments. In the ex-vivo set-up, blood from healthy volunteers was subjected to a neonatal CPB set-up mimicking the procedure. Extracellular vesicles and red blood cells were isolated by (ultra)centrifugation procedures and characterized with Nanosight regarding size and number. The interaction of red blood cell vesicles with endothelium was quantified using a pseudoperoxidase assay (measuring hemoglobin) and visualized after labelling of vesicles with PKH67. mRNA expression levels of selected proteins involved in iron homeostasis were quantified by qPCR.

Results: Vesicle formation could not be detected in CPB residues. That means that vesicles are not formed or that their clearance rate surpasses the formation rate. By subjecting whole blood to an ex-vivo CPB set-up, clearance of vesicles could be eliminated. In this set-up, vesicle formation was prominent and dependent on duration of the procedure. The predominant source of vesicles was red blood cells. When we incubate red blood cell vesicles with activated endothelium cells we observed uptake and processing of vesicles. Uptake was enhanced by the phosphatidylerine-binding opsonin lactadherin and led to upregulation of iron processing-enzymes.

Conclusion: Our results show that extracellular vesicles are formed during CPB, but these vesicles are rapidly cleared in patients. Apart from macrophages, extracellular vesicles can be taken up by other cell types and induce phenotypic changes that could potentially contribute to the diffuse inflammatory state after CPB in patients.

52. TI-AMO: Troponine T en I voor de diagnostiek van het Acute Myocard Infarct: een observationele studie

S.M.I. GOORDEN², R.A. van ENGELEN¹, L.S. WONG¹, M. EL FARISSI¹, M.M. BUIJS², G.J.E. VERDEL¹
Kenemer Gasthuis, Afdeling cardiologie¹, Haarlem. Atal-Medial Diagnostische Centra², Hoofddorp

Inleiding: In de diagnostiek van het Acuut Myocard Infarct (AMI) staat het bepalen van de hartspecifieke marker Troponine centraal. Binnenkort vervangt Atal-Medial de Roche high-sensitive Troponine-T (TnT)-assay door de nieuwe high-sensitive Troponine-I (TnI)-assay van Abbott. Doel van deze studie is het bepalen van optimale afkapwaarden van TnI voor het stellen van de diagnose AMI in de klinische praktijk.

Method: Alle patiënten die zich op de CCU van het Kenemer Gasthuis presenteren met klachten passend bij AMI worden geïnccludeerd. Naast standaarddiagnostiek wordt TnI (CVa: 4,7% bij 14,3 ng/l) bepaald, maar niet gerapporteerd. In totaal worden ongeveer 1400 patiënten geïnccludeerd, waarvan naar verwachting 140 AMI's. Op basis van ROC-curves worden optimale afkapwaarden bepaald.

Resultaat: Vooralsnog zijn 405 patiënten geïnccludeerd. Zeven patiënten met een ambulante doorgemaakte infarct zijn later

geëxcludeerd. Bij de overige 398 patiënten werden 39 AMI's gediagnosticeerd (cases) en 359 alternatieve diagnoses (controls) gesteld. De gemiddelde (range) TnI en TnT bij presentatie in cases vs. controles is respectievelijk 15427 (5-161 994) en 1531 (8-9988) vs. 69 (0-5539) en 24 (2-723) ng/l. De sensitiviteit voor TnI vs. TnT is: 80% (bij 99e perc: 16 ng/l); 86% (bij 99e perc: 34 ng/l) vs. 92% (bij 99e perc: 14 ng/l). De specificiteit voor TnI (afkapwaarde: 300 ng/l) vs. TnT (afkapwaarde: 50 ng/l) is 95,6% (♂#9794); en 98,3% (♀#9792); vs. 90,3%.

Conclusie: De TnI-concentraties zijn duidelijk hoger dan de TnT-waarden zowel bij AMI-patiënten als bij controles. De sensitiviteit van beide assays is in ons onderzoek lager dan in interventieel onderzoek. Dit heeft waarschijnlijk te maken met enkele vroegtijdige bepalingen van Troponine (<3 uur klachten). Een optimale afkapwaarde voor de TnI-kinetiek wordt bepaald na volledige inclusie.

53. Patients undergoing elective coronary artery bypass grafting (CABG) exhibit poor pre-operative intakes of fruit, vegetables, dietary fiber, fish and vitamin D

B. RUIZ-NÚÑEZ¹, G.H.A.M. van den HURK¹, J.H.M. de VRIES², M.A. MARIAN^{1,3}, M.J.L. de JONGSTE³, D.A.J. DIJCK-BROUWER¹, F.A.J. MUSKIET¹

Laboratory Medicine¹, University Medical Center Groningen (UMCG), The Netherlands; Division of Human Nutrition², Wageningen University, The Netherlands; Thorax Center³, University Medical Center Groningen (UMCG), The Netherlands

Introduction: Coronary heart disease (CHD) accounts for about 30% of overall mortality in The Netherlands. An important cause is atherosclerosis, which may ensue from chronic systemic low-grade inflammation. Diet is a modifiable risk factor for both conditions. Dietary intakes of patients undergoing elective CABG were investigated, emphasizing food groups and nutrients playing roles in the inflammatory/anti-inflammatory balance.

Methods: From November 2012 to April 2013 we included 93 consecutive patients (80% men) undergoing elective CABG within the UMCG. Of these, 55 (84% men, median 69 years,

range: 46-84) agreed to complete a validated food frequency questionnaire (Wageningen University).

Results: Median BMI was 27 (range: 18-36) kg/m², with 45% >25 kg/m² and 16% >30 kg/m². Their intakes (median; range) were: fruits (181; 0-433 g/day), vegetables (115; 0-303 g/day), dietary fiber (22; 9-45 g/day), EPA+DHA from fish (0.14; 0.01-1.06 g/day), vitamin D (4.9; 1.9-11.2 microg/day), saturated fat (13.1; 8.6-23.4 energy%) and linoleic acid (6.3; 2.0-11.3 energy%). The percentages patients with intakes below recommendations were: 21% (fruits; recommendation: 200 g/day), 73% (vegetables; 150-200 g/day), 87% (dietary fiber; 30-45 g/day), 91%

(EPA+DHA; 0.45 g/day), 98% (vitamin D; 10-20 microg/day) and 13% (linoleic acid; 5-10 energy%). Percentages above recommendations were: 54% (saturated fat; <10 energy%) and 7% (linoleic acid). The intakes proved comparable with those of the age- and sex-matched healthy Dutch population according to the Voedselconsumptiepeiling 2007-2010.

Conclusion: About half of the patients were overweight/obese. Their pre-operative diet puts them at risk of a pro-inflammatory state that may unfavorably influence surgery outcome. There is an urgent need for intervention trials aiming at rapid improvement of their unbalanced pre-operative diets to reduce the risk of post-operative complications, such as cognitive decline.

54. Effect of remote ischemic preconditioning on the release of cardiac biomarkers after a 30 km run: a randomized trial

L.J.J. KLINKENBERG¹, N. van der LINDEN¹, D.P.C. SNIJDERS¹, L.J.C. van LOON², M.P. van DIEIJEN-VISSER¹, S.J.R. MEEEX¹

Department of Clinical Chemistry¹, Cardiovascular Research Institute Maastricht (CARIM) and Department of Human Movement Sciences², School for Nutrition, Toxicology and Metabolism (NUTRIM), Maastricht University Medical Center (MUMC), Maastricht.

Introduction: Elevated cardiac troponin (cTn) levels are frequently observed following prolonged endurance exercise. Several mechanisms may underlie exercise-induced cTn release, including an increase in cardiomyocyte permeability or cardiomyocyte injury due to ischemia. The aim of this study was to investigate whether remote ischemic preconditioning (RIPC), an established cardioprotective strategy that limits ischemia-reperfusion injury, has an effect on cTn and N-terminal pro-brain type natriuretic peptide (NT-proBNP) release after prolonged endurance exercise.

Methods: In a randomized crossover design, 26 healthy volunteers participated to an outdoor 30 km running trial preceded by RIPC of the forearm (4 x 5 min 220 mmHg unilateral occlusion) or a control intervention (4 x 5 min 20 mmHg unilateral occlusion). Cardiac troponin T (cTnT) and NT-proBNP concentrations were examined before, immediately after, 2 hours and

5 hours after exercise.

Results: In both trials, there was a consistent rise and fall of cTnT concentrations, from median baseline value of 5 ng/L (IQR 3-8) to 31 ng/L (IQR 23-50) immediately after the control trial ($p < 0.001$). RIPC did not reduce exercise-induced cTnT release (median control 31 ng/L IQR 23-50 vs. RIPC 23 ng/L IQR 18-40 0h post-exercise, $p = 0.38$). The effect of RIPC on exercise-induced NT-proBNP release was modest but statistically significant (median control 13 pmol/L vs. RIPC 10 pmol/L, $p = 0.03$).

Conclusion: Brief episodes of upper limb ischemia-reperfusion preceding prolonged exercise decrease NTproBNP levels, but have no effect on cTnT release. Therefore, it seems unlikely that ischemia-reperfusion injury contributes to cTn release in the setting of prolonged endurance exercise.

55. The effect of a six-month resistance-type training program on the course of high-sensitive cardiac troponin T levels in (pre)frail elderly

N. van der LINDEN¹, M. TIELAND², L.J.J. KLINKENBERG¹, L.C.P.G.M de GROOT², L.J.C. van LOON³, M.P. van DIEIJEN-VISSER¹, S.J. R. MEEEX¹

Maastricht University Medical Center (MUMC)¹, Central Diagnostic Laboratory, Maastricht, The Netherlands, Wageningen University², Division of Human Nutrition, Wageningen, The Netherlands, Maastricht University Medical Center (MUMC)³, Department of Human Movement Sciences, Maastricht, The Netherlands

Introduction: Basal serum cardiac troponin has emerged as a prognostic biomarker for cardiovascular risk (1). A recent observational study showed that higher physical activity is associated with both a lower basal cardiac troponin T (cTnT) and a lower probability of a significant increase of cTnT over time (2). However, a causal relationship has not been demonstrated. The present trial was conducted to investigate the hypothesis that a six-month resistance-type training program can influence basal serum cTnT levels in (pre)frail elderly, a group with high vulnerability to adverse cardiovascular outcomes and all-cause mortality (3).

Methods: Sixty-two (pre)frail elderly subjects participated in a 24-week supervised resistance-type exercise training program, or were followed-up during a parallel non-interventional control period. Training was scheduled twice per week and workload was gradually increased during the study. Plasma cTnT was measured using the high-sensitive cTnT assay at 0, 12 and 24

weeks of intervention.

Results: All cTnT concentrations during the study (range 3.78–105.70ng/L) were above the detection limit (3ng/L), and 40 subjects had at least one measurement above the 99th percentile (14ng/L). Using mixed linear model analyses, no differences between the intervention and the control group on the course of cTnT levels during the six-month period were observed (intention to treat $p = 0.38$, per protocol $p = 0.16$).

Conclusion: We found no effect of a six-month resistance-based training program on the course of cTnT levels in (pre) frail elderly. Larger, more prolonged intervention studies are required to further examine whether basal troponin levels are causally related to physical activity.

Literature: (1) Giannitsis et al. *Nat Rev Cardiol* 2013, 10: 623-34. (2) deFilippi et al. *J Am Coll Cardiol*. 2012, 60(24):2539-47. (3) Afilalo et al. *Am J Cardiol* 2009, 103(11): 1616-21.

56. Methotrexate use and erythrocyte-methotrexate polyglutamate levels are associated with glycosylated hemoglobin in rheumatoid arthritis patients

M.C.F.J. de ROTTE¹, P.H.P. de JONGE², E. den BOER¹, S.M.F. PLUIJM³, B. ÖZCAN⁴, A.E. WEEL⁵, J. LINDEMANS¹, J.M.W. HAZES², R. de JONGE¹
Department of Clinical Chemistry¹, Department of Rheumatology², Department of Pediatric Hemato-Oncology³, Department of Internal Medicine⁴, Erasmus University Medical Center, Rotterdam, Netherlands. Department of Rheumatology⁵, Maasstad Hospital, Rotterdam, Netherlands

Introduction: We investigated whether methotrexate (MTX) use and erythrocyte-methotrexate-polyglutamate (MTX-PG) concentrations are associated with changes in glycosylated hemoglobin (HbA1c) in rheumatoid arthritis (RA) patients.

Methods: For the derivation cohort, RA patients according to the 2010 classification criteria were selected from the treatment in the Rotterdam Early Arthritis Cohort. Data were used from patients randomized into 6 treatment arms: A) triple (MTX, sulphasalazine, hydroxychloroquine) disease-modifying anti-rheumatic drug (DMARD) therapy (TDT) with intramuscular-glucocorticoids, B) TDT with oral-glucocorticoids, C) MTX with oral-glucocorticoids, D) MTX, E) oral-glucocorticoids, and F) hydroxychloroquine. HbA1c was determined at baseline and after 3 months. Erythrocyte-MTX-PG1-5 concentrations were measured after 3 months. Within treatment-arms, paired t-test was used to compare HbA1c-change (3 months minus baseline). Associations of MTX-PG concentrations with HbA1c-change were tested with multiple linear regression

analysis, adjusted for age, gender, body mass index, and co-medication. Significant associations were validated in RA patients on MTX from the Methotrexate-Rotterdam cohort.

Results: In the derivation cohort, mean HbA1c-change was -1.9 mmol/mol ($p=0.001$). This decrease in HbA1c after 3 months of treatment was observed in treatment-arms A) -5.5 mmol/mol ($p<0.001$), B) -3.7 mmol/mol ($p<0.001$), D) -0.8 mmol/mol ($p=0.018$), and F) -2.0 mmol/mol ($p=0.175$). In the derivation cohort, MTX-PG2 ($\beta=-0.20$; $p=0.005$), MTX-PG3 ($\beta=-0.31$; $p<0.001$), MTX-PG4 ($\beta=-0.33$; $p<0.001$), MTX-PG5 ($\beta=-0.39$; $p<0.001$) and total MTX-PG ($\beta=-0.29$; $p<0.001$) were associated with decreased HbA1c. In the validation cohort, HbA1c decreased -2.6 mmol/mol ($p<0.001$) and MTX-PG3 was associated with decreased HbA1c ($\beta=-0.26$; $p=0.018$).

Conclusion: MTX-use and higher erythrocyte-MTX-PG concentration are associated with decreased HbA1c in RA patients.

57. Rapidly rule out myocardial infarction by combining H-FABP or copeptin with cardiac troponin

L.H.J. JACOBS^{1*}, M.M.G.J. van BORREN^{1*}, E. GEMENI¹, M. van ECK², B. van SON², J. GLATZ³, M. DANIELS², R. KUSTERS^{1,4}

*Laboratory for Clinical Chemistry and Haematology¹ and Department of Cardiology², Jeroen Bosch Hospital, 's-Hertogenbosch, the Netherlands. Department of Molecular Genetics³, Cardiovascular Research Institute Maastricht (CARIM), Maastricht University, Maastricht, The Netherlands. Department of Health Technology and Services Research (HTSR)⁴, University of Twente, the Netherlands. *Contributed equally to this work*

Introduction: The ability to rapidly and accurately diagnose acute myocardial infarction (AMI) is crucial to the initiation of effective therapeutic strategies. The combined use of biomarkers that are associated with different pathophysiological aspects of AMI could improve the early diagnostic assessment of patients presenting with chest-pain.

Methods: We included 584 patients suspected with AMI who presented to the emergency department <12 h after chest-pain onset (CPO). The diagnostic performances of baseline copeptin, cardiac troponin-I (cTnI) and Heart-type-fatty-acid-binding-protein (H-FABP) for both AMI and N-STEMI were calculated by Receiver Operating Curve (ROC) analysis. Diagnostic sensitivity, specificity, positive (PPV) and negative (NPV) predictive values were calculated using pre-defined cut-off values for copeptin (>14 pmol/L), cTnI (>45 pg/L) and H-FABP (>4 ng/mL). Separate calculations are made for the patients presenting to the ER <3h, 3-6h and 6-12h after CPO.

Results: For the diagnosis AMI the NPV (95% CI) of cTnI, copeptin and H-FABP were 90.4 (87.3-92.9), 84(79.8-87.6) and 87 (83.5-90), respectively. Combining the 3 biomarkers resulted in a NPV of 95.8 (92.8-97.8). The improvement was most pronounced in the early presenters (< 3h) with a combined NPV of 92.9 (87.3-96.5) compared to 84.6 (79.4-88.9) for cTnI alone. For the early presenters, the area under the ROC (AUC) was significantly ($p = < 0.05$) higher for the triple biomarker combination (AUC (95% CI) = 0.880 (0.838-0.915)) than for cTnI alone (AUC = 0.840 (0.793-0.879)). Results for N-STEMI were similar to those in AMI.

Conclusion: Combining copeptin, H-FABP and cTnI measurements improves the diagnostic performance in patients presenting with chest-pain. Importantly, in patients that present within 3 hours after CPO, the combination improves the diagnostic performance beyond that of cTnI.

58. Cardiac troponin concentrations in patients with chest discomfort: is it the heart or the kidneys as well?

E.P.M. CARDINAELS¹, S. ALTINTAS², M.O. VERSTEYLEN², I.A. JOOSEN², J.E. WILDBERGER³, L.J. JELLEMA⁴, H.J. CRIJNS², O. BEKERS¹, M.P. van DIEIJEN - VISSER¹, B.L. KIETSELAER², A.M.A. MINGELS¹
Maastricht University Medical Center/Cardiovascular Research Institute Maastricht (CARIM)¹, Department of Clinical Chemistry¹ Department of Cardiology², Department of Radiology³, Maastricht University Medical Center, Maastricht, the Netherlands; Gelre Ziekenhuizen⁴, Apeldoorn, The Netherlands

Introduction: Highly sensitive cardiac troponin (hs-cTn) concentrations are strong predictors of acute cardiovascular events in patients with coronary artery disease. Apart from cardiac disease, hs-cTn are also known to be elevated in patients with renal dysfunction, complicating their interpretation in the individual patient. In this study we therefore investigated hs-cTn concentrations on their association with cardiac imaging

measures, renal function and the incidence of cardiovascular events.

Methods: A cohort of 1864 consecutive patients with symptoms of chest discomfort underwent cardiac computed tomographic angiography and echocardiography. Serum samples were analyzed using the hs-cTnT (Roche diagnostics) and hs-cTnI (Abbott Diagnostics) assays. Renal function was assessed by

the estimated glomerular filtration rate (eGFR), established from serum creatinine and/or cystatin C concentrations.

Results: Even after adjustment for traditional risk factors, hs-cTn concentrations were significantly associated with cardiac imaging parameters, such as the coronary calcium score (hs-cTnT: $\text{st}\beta=0.100$; hs-cTnI: $\text{st}\beta=0.122$) and left ventricular mass (hs-cTnT: $\text{st}\beta=0.179$; hs-cTnI: $\text{st}\beta=0.267$), but also remained strongly associated with eGFR (hs-cTnT: $\text{st}\beta=-0.289$; hs-cTnI: $\text{st}\beta=-0.222$) (all $p<0.001$). Interestingly, renal function exerted no confounding effects on the association of cardiac parameters with hs-cTn concentrations. Moreover, the association between eGFR and hs-cTn remained equally as strong among patients

with no (hs-cTnT: $\text{st}\beta\text{eGFR}:-0.295$; hs-cTnI: $\text{st}\beta\text{eGFR}:-0.228$), non-obstructive (hs-cTnT: $\text{st}\beta\text{eGFR}:-0.290$; hs-cTnI: $\text{st}\beta\text{eGFR}:-0.176$) and obstructive plaques (hs-cTnT: $\text{st}\beta\text{eGFR}:-0.293$; hs-cTnI: $\text{st}\beta\text{eGFR}:-0.249$) (all $p<0.001$). Still, both hs-cTn concentrations remained significant prognostic markers of cardiovascular events.

Conclusion: In patients with chest discomfort, we identified renal function and cardiac pathology as two separate sources leading to troponin accumulation. Even after consideration of these influences, hs-cTn remained important for the prediction of cardiovascular events.

Endocrinologie en intermediaire stofwisseling

59. Pregnancy detection by quantitative urine hCG analysis: the need for a lower cut-off

M.TERWIJN¹, A. van SCHIE², M.A. BLANKENSTEIN¹, A.C. HEIJBOER¹

Department of Clinical Chemistry¹ and Department of Nuclear Medicine and PET Research², VU University Medical Center, Amsterdam, The Netherlands

Introduction: Quantitative hCG analysis has been widely used in serum, but is also available in urine. The cut-off value for positivity in urine is in many laboratories up to 50 U/L, only based on the detection limits for qualitative tests. We want to stress the need to reconsider this cut-off value, illustrated by the case of a young woman with an early pregnancy and a low urine hCG concentration, which was measured just before undergoing Iodine131 therapy.

Methods: Urine and serum hCG was determined by sandwich immunoassay (Roche).

Results: Urine of the woman in our case was analysed for hCG and contained 12 U/L. Subsequent serum analysis revealed hCG levels of 15 U/L. Based on these hCG concentrations the

Iodine131 therapy was cancelled. Serum sent 2 days later showed a serum hCG concentration of 147 U/L.

Conclusion: The hCG concentrations clearly indicate an early pregnancy. Cancellation of the Iodine131 therapy prevented the embryo from potential hazard. The results in urine, however, would have been interpreted as negative in hospitals that use a cut-off of 20 U/L or higher. These cut-off levels are based on technical limitations of previously used qualitative tests. Using a relatively high cut-off level in the hospital setting, pregnancies can be missed with potential harmful consequences. We therefore suggest to use a cut off value of 5 U/L instead of 20 U/L or higher, thereby lowering the number of false-negative results in the hospital setting.

60. Klinische evaluatie van het gebruik van de Nova Statstrip glucosemeter bij insuline tolerantie testen

F.P.W. TEGELAERS¹, S.H. BOOIJ², P.G.E. KRAMER²

Laboratorium voor Klinische Chemie, Hematologie en Immunologie¹, Poli Dagbehandeling Interne², Medisch Centrum Alkmaar

Inleiding: Het Medisch Centrum Alkmaar gebruikt Nova Statstrip glucosemeters in een POC-omgeving. De technische validatie had reeds aangetoond dat de resultaten van deze meters goed overeenkomen met de laboratoriummetingen op de Beckman DxC 800 ($Y=0.97X-0.08$, $r=0.994$, vergelijkbare CV's (EP5)). In deze vervolgstudie worden de meters getest tijdens insuline tolerantie testen (ITT's) en vergeleken met de metingen op de Beckman DxC800.

Methode: Bloed wordt via een venflon afgenomen op T= -15, -5, 0, 15, 30, 45, 60 en 90 minuten. Insuline wordt conform protocol toegediend op T=0. NaF buizen worden naar het laboratorium gestuurd en een extra druppel wordt gemeten op de Nova Statstripmeter. Daarnaast voert de verpleegkundige naar believen extra glucosemetingen uit met de Nova Statstripmeter. Resultaat: Inmiddels zijn bij 36 patiënten ITT's uitgevoerd. In alle gevallen stemden de glucosecurven van de Beckman en

de Nova Statstripmeter overeen. Bij 23 ITT's werd met beide methodes een geslaagde test geconstateerd (glucosewaarde <2.2 mmol/l). Bij 4 ITT's gaven beide methodes aan dat de bereikte glucosedaling onvoldoende was. In 7 gevallen werd met de Nova Statstripmeter een voldoende daling aangetoond, die met het (beperkte) aantal labmetingen werd gemist. In 2 gevallen werd met de Nova Statstripmeter vroegtijdig een te diepe hypoglycemie (glucose <1.4 mmol/l) gesignaleerd, die direct gecorrigeerd kon worden.

Conclusie: Het gebruik van de Nova Statstripmeter tijdens de ITT's heeft dankzij de precisie van de meter grote voordelen: doordat verpleegkundigen frequenter meten kan nauwkeuriger vastgesteld worden of de ITT geslaagd is. Onnodige herhalingen van de ITT's worden zo voorkomen. Bovendien kunnen door de extra metingen ernstige hypoglycemieën snel worden gesignaleerd en daardoor eerder gecorrigeerd.

61. A woman presenting with hypercortisolism

I.C.A. MUNNIX¹, P. van BATTUM², M.T.M. RAIJMAKERS², G. MOSTARD², W.P. OOSTERHUIS²

Canisius-Wilhelmina Hospital, Department of Clinical Chemistry¹, Nijmegen and Atrium Medical Centre, Department of Clinical Chemistry², Heerlen

Introduction: Cushing's syndrome is the result of extended exposure to excessive glucocorticoids from endogenous or exogenous sources. It is challenging to diagnose, as some individuals do not conform to traditional investigative approaches. This presents a diagnostic trap for the unwary.

Methods: A 43-year-old female was admitted at the emergency department with a history of depression, and abuse of alcohol and cannabis. Physical examination showed cushingoid signs with accumulation of fat in the face (moon facies), central obesity, marked abdominal striae, extensive acne, hirsutism

and dorsocervical fat pads (buffalo hump).

Results: An elevated urinary free cortisol level was measured on two separate occasions. The morning adrenocorticotropic hormone concentration was also elevated. A 1 mg overnight dexamethasone suppression test showed inadequate suppression of a morning plasma cortisol. Since the MRI of the pituitary was normal, a high-dose dexamethasone test was performed together with midnight and morning cortisol sampling. The results were normal, and the suspected diagnosis of Cushing's syndrome

was not confirmed. As these results were not in line with the previous findings, measurement of urinary free cortisol was repeated and now was within the normal range.

Conclusion: Taking all these results into consideration the diagnosis of Pseudo-Cushing was finally made. This case clearly demonstrates the difficulties to establish the diagnosis of Cushing's syndrome and illustrates the nuances of a so-called pseudo-Cushing state, which aggravates the differential diagnostic dilemmas of elevated cortisol concentrations.

Bloedvorming, bloedstolling, transfusie

62. Hyperchromic rbc for spherocytosis screening

S. ROONEY¹, O.M. CORMACK¹, C. MCMAHON¹, J.J.M.L. HOFFMANN²

Haematology Department¹, Our Lady's Children's Hospital, Crumlin, Dublin, Ireland; Medical & Scientific Affairs², Abbott Diagnostics, Abbott GmbH & Co. KG, Wiesbaden-Delkenheim, Germany

Introduction: Although spherocytes have increased cellular hemoglobin concentration, MCHC is an insensitive parameter for detecting spherocytes. Applying the Mie theory, multi-dimensional optical scatter of spheroid RBC can identify and enumerate hyperchromic RBC (HPR), which might be used for hereditary spherocytosis (HS) screening. The aim of this study was to assess the utility of HPR as a screening tool for HS.

Methods: Blood from 740 pediatric patients with a variety of diseases was analyzed in the reticulocyte mode of the CELL-DYN Sapphire hematology analyzer (Abbott Diagnostics) for obtaining HPR. In all samples the EMA test (eosin-5'-maleimide staining of RBC cytoskeleton proteins) was performed using a flow cytometer, as the reference method.

Results: Stability studies with blood from HS patients showed a significant decrease of HPR after 6 hours. Therefore, samples were measured within 6 hours from blood collection. HPR results

in the most relevant patient groups were as follows (values are median with range in parentheses): HS 11.3% (0.0-29.2; n=32); auto-immune hemolytic anemia 4.9% (0.0-18.3; n=8); hereditary elliptocytosis 4.2% (3.7-4.7; n=2); RBC enzyme deficiency 0.05% (0.0 -0.5; n=6); hemoglobinopathy 0.06% (0.0-5.8; n=115) and healthy 0.0% (0.0-1.2; n=272). HPR in the HS group were significantly higher than in all other groups, although there was some overlap with AIHA patients. ROC analysis showed a very high area under the curve: 0.972 (95% confidence interval 0.957-0.983). At a cut-off value 4.9%, HPR was able to detect HS with 96.4% sensitivity and 99.1% specificity.

Conclusion: Hyperchromic RBC as measured on CELL-DYN Sapphire is a highly sensitive and specific test for detecting spherocytes and can be used as a rapid and inexpensive screening tool for hereditary spherocytosis.

63. Erythrocyte subsets in the differential diagnosis of microcytic anemia

E. URRECHAGA¹, J.J.M.L. HOFFMANN², L. BORQUE³, J.F. ESCANERO³

Hematology Laboratory¹, Hospital Galdakao – Usansolo, Galdakao, Vizcaya, Spain; Medical & Scientific Affairs², Abbott Diagnostics, Abbott GmbH & Co. KG, Wiesbaden-Delkenheim, Germany; Department of Pharmacology and Physiology³, Faculty of Medicine, University of Zaragoza, Zaragoza, Spain

Introduction: Thalassemia and iron deficiency are the most frequent causes of microcytic anemia. Various indices derived from red blood cell (RBC) parameters measured with automated hematology analyzers have been described for distinguishing these diseases. Such indices were proven to be efficient selection tools of samples that need further testing for confirming the diagnosis. Applying Mie theory principles, the CELL-DYN Sapphire analyzer (Abbott Diagnostics, Santa Clara, California, USA) uses multi-angle laser light scattering for measuring various RBC subsets, including microcytic (M) and hypochromic (H) cells. We studied the M/H ratio as a discriminant index in microcytic anemia and compared it to more traditional indices.

Methods: During March and April 2013 we selected 215 patients with mild microcytic anemia (Hb 5.7-7.5 mmol/L, MCV < 80 fL) from the routine workload. Standard diagnostics confirmed that 150 of them had iron deficiency and 65 were thalassemia carriers. Samples were analyzed on a CELL-DYN

Sapphire within 6 hours from blood collection and discriminant indices calculated. Optimal cut-off values were established using ROC analysis.

Results: An M/H ratio > 6.4 was found to be strongly indicative of thalassemia: AUC 0.948, with sensitivity 0.964 and specificity 0.851. The traditional England-Fraser, Green-King and Mentzer indices all had comparable AUC (0.938-0.958), whereas sensitivity ranged 0.666-0.857 and specificity 0.942-0.984. The superior sensitivity of the M/H ratio is a clear advantage for screening.

Conclusion: Overall, the M/H ratio performed as well as the Green-King index in identifying thalassemia carriers among patients with mild microcytic anemia. Whereas the Green-King index was more specific, the M/H ratio was the most sensitive, which makes it a quick and inexpensive tool for screening those patients who need confirmatory HbA2 testing.

64. Leeftijdsafhankelijke afkapwaarden voor de d-dimeer test bij verdenking op een veneuze trombo-embolie – zo klaar als een klontje?

R. VERHEUL¹, J. TIJMENSEN², R. MAIRUHU², P. YPMA³, C. HUDIG¹

Afdeling Klinische Chemie¹, Hagaziekenhuis/LabWest; Afdeling Interne Geneeskunde² en Afdeling Hematologie³, Hagaziekenhuis, Den Haag

Inleiding: D-dimeer assays worden veelvuldig toegepast in combinatie met een lage Wells score om veneuze trombo-

embolieën (VTE) uit te sluiten bij patiënten. Echter, vanuit de kliniek bestaat er grote behoefte de specificiteit te verhogen.

Recentelijk is een retrospectieve analyse gepubliceerd over leeftijdsafhankelijke afkapwaarden (LAAW, >50 jaar dan afkapwaarde = 10 µg/l fibrinogeen equivalente eenheden (FEU) * leeftijd). Deze studie suggereert dat LAAW tot vermindering van vervolgonderzoek leiden zonder noemenswaardig verlies aan sensitiviteit, onafhankelijk van het type d-dimeertest (1). Een multidisciplinaire inventarisatie (hematologie, vasculaire geneeskunde en klinische chemie) was geïndiceerd.

Resultaat: In het Haga ziekenhuis worden ca. 1300 d-dimeer testen per jaar verricht waarbij 55% van de resultaten >500 µg/l FEU zijn; bij LAAW zou 46% positief zijn. Het grootste effect van LAAW was zichtbaar bij de oudste patiënten (>80 jaar dan 91% vs. 70% positief). Ook is het effect van LAAW op een SEH-populatie met lage Wells score bekeken (309 patiënten) met twee d-dimeer testen, Tina-quant 2e generatie en VIDAS

Exclusion. Door gebrek aan standaardisatie waren er grote verschillen: bij de VIDAS steeg de positief voorspellende waarde van 21 naar 24% (sensitiviteit bleef 100%) terwijl bij de Tina-quant de PVW van 29 naar 31% ging (sensitiviteit daalde van 96 tot 93%).

Conclusie: Onze inventarisatie laat variatie in prestaties van verschillende d-dimeer testen zien bij implementatie van LAAW. Dit is onvoldoende bekend bij aanvragers en komt maar beperkt naar voren in de huidige toonaangevende studies. Klinisch chemici zouden dus, naast een voortrekkersrol bij de harmonisatie en/of standaardisatie, ook bij aanpassingen aan de d-dimeer test vanuit de kliniek prominenter hun toegevoegde waarde moeten laten zien.

Literatuur: (1) Schouten et al. BMJ 2013;346:f2492.

65. Bloedingsrisico door trombocytopenie, maar trombocyten-transfusie geen optie!

J.K. van KEULEN¹, H.C.T. van ZAAENEN², S. van der KREEFT², E.A.J. BOUDESTEIJN³, J.W. JANSSEN¹
Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium¹; Interne Geneeskunde²; Intensive Care³; Sint Franciscus Gasthuis, Rotterdam

Inleiding: 42-jarige vrouw op SEH is al een week niet lekker, ineens slecht aanspreekbaar en wordt nu subcomateus overgeplaatst. Patiënte heeft ook petechiën op haar bovenarm. Vanwege laag Hb (2,8 mmol/l) wordt gestart met bloedtransfusie. In het laboratorium valt het cola-kleurige plasma op, duidend op sterke hemolyse. Overige laboratoriumuitslagen zijn; sterk verhoogd LD (5769 U/l), laag trombocytenaantal ($6 \times 10^9/l$) en fragmentocyten in diff. Deze combinatie van symptomen en labuitslagen kunnen passen bij TTP (Trombotische Trombocytopenische Purpura).

Methode: TTP komt ongeveer 40 keer per jaar voor in Nederland. Bij TTP knipt ADAMTS-13 niet meer, door genetische oorzaak of aanwezigheid van antilichamen bij auto-immunreactie. Lange vWF-eiwitten blijven daardoor aanwezig op endotheelcellen en activeren trombocyten. Zo ontstaan stolsels in het capillaire vaatbed en is er tekort aan trombocyten in de circulatie, met bloedingrisico tot gevolg. Ondanks het lage aantal trombocyten, zijn trombocyten wel de kern van het probleem.

Trombocyten-transfusie kan het klinisch beeld verder verslechteren, door vorming van nieuwe stolsels. Bij TTP wordt plasmaferese toegepast, om ADAMTS-13 activiteit te herstellen en antilichamen uit het bloed van patiënt te filtreren. Resultaat: Bij TTP past een ADAMTS-13 activiteit van <10%. ADAMTS-13 activiteit wordt gemeten met een FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer assay). Het stuk vWF-eiwit, dat geknipt wordt door ADAMTS-13 is gekoppeld aan enerzijds een lichtsignaal, anderzijds een doofsignaal. Na toevoegen van plasma, zal ADAMTS-13 het vWF-fragment knippen, zodat het lichtsignaal niet langer gedoofd wordt. De ADAMTS-13 activiteit wordt uitgedrukt in een percentage van een donorplasmapool (=100%).

Conclusie: Bij trombocytopenie veroorzaakt door TTP, kan trombocyten-transfusie het probleem versterken. Voor de enige adequate behandeling, plasmaferese, is een juiste diagnose essentieel. Belangrijk; bij TTP nooit trombocyten geven, tenzij harde klinische indicatie zoals een hersenbloeding.

66. Electronic transfusion tracking

R. HENDRIKS, S. BACKES-SILLEKENS, R.C.R.M. VOSSEN

Orbis Medical Center, Department of Clinical Chemistry and Hematology, Sittard, The Netherlands

Introduction: The use of information technology is recommended by the Dutch Transfusion Guideline to reduce transfusion errors. Therefore, Orbis Medical Center (OMC) started electronic transfusion tracking using Cybertrack. After a successful pilot project, Cybertrack is implemented in most of the hospital wards.

Methods: In 2012 electronic ordering of crossmatch samples and blood components is introduced in OMC. Blood components are released for the ward after barcode assisted compatibility check and automatic blood component selection in Glms. In 2013 barcode assisted administration of blood components to patients is enabled via Cybertrack, a webbased program connected with Glms and SAP. For physicians and nurses Cybertrack offers direct access to transfusion records and to electronic compatibility check between patient wristband and blood component.

Results: Electronic ordering, bloodcomponent selection and

Cybertrack enabled safe blood component administration to the patients at the ward by barcode identification. In addition, Cybertrack enabled more efficient electronic procedures resulting in reduced time for nurses and technicians performing transfusion preparations. Regarding 5148 transfusions and 13994 orders, a significant reduction was shown in nursing time (3 min/transfusion = 257 hour/year), in technician time (3.5 min/transfusion = 300 hour/year), and additional technician time (1 min/order = 233 hour/year). This reduction of 790 hours compensates well for the Cybertrack investments and creates time for better monitoring the patient.

Conclusion: The introduction of Cybertrack resulted in safe tracking of the transfusion chain in OMC, from laboratory testing to blood administration to the patient. This improved patient safety in blood transfusion, by enabling safe cross-matching of patient and blood component, improved accessibility of transfusion data and more efficient procedures at the ward.

Infectie, afweer, allergie

67. Inosine triphosphate pyrophosphohydrolase activity predicts ribavirin-induced anemia in hepatitis C infected patients

N.C. PELTENBURG^{1,2}, J.A. BAKKER^{3,4}, W.H.M. VROEMEN^{3,5}, R.J. DEKNEG⁶, M.P.G. LEERS⁵, J. BIERAU³, A. VERBON²

Department of Internal Medicine, Division Infectious Diseases, Maastricht University Medical Center¹, Maastricht, The Netherlands, Department of Internal Medicine, Division Infectious Diseases, Erasmus Medical Center², Rotterdam, The Netherlands, Laboratory of Biochemical Genetics, Department of Clinical Genetics, Maastricht University Medical Center³, Maastricht, The Netherlands, Department of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, Leiden University Medical Center⁴, Leiden, The Netherlands, Department of Clinical Chemistry & Hematology, Atrium Medical Center Parkstad⁵, Heerlen, The Netherlands, Department of Gastroenterology, Erasmus Medical Center⁶, Rotterdam, The Netherlands.

Introduction: ITPA polymorphisms have been associated with protection against ribavirin-induced anemia in chronic hepatitis C (HCV) patients. This study evaluated the association of both ITPA genotype and inosine triphosphatase (ITPase) activity with ribavirin induced anemia during treatment of HCV infection.

Methods: In a cohort of HCV patients (n=106, 69 treated with ribavirin), hemoglobin (Hb) values were evaluated pre-treatment, after four weeks (HbT4) and lowest Hb value (Hbnadir). ITPase activity was measured and ITPA genotype determined. Single-nucleotide polymorphisms (SNP's) tested were c.124+21A>C and c.94C>A. ITPase activity ≥ 4 mmol IMP/mmol Hb/hour was considered as normal.

Results: At T4, 78% of the patients with normal ITPase activity were anemic and 21% of the patients with low ITPase activity (p<0.001). Stratified by genotype, the percentages of anemic

patients were: wt/wt 76%, wt/c.124+21A>C 46% (p= 0.068), and wt/c.94C>A 29% (p= 0.021). At Tnadir, virtually all patients with normal activity were anemic, compared to only 69% of the patients with low activity (p=0.013). Considering genotype, 96% carrying wt/wt were anemic at Tnadir, 82% of the patients carrying wt/c.124+21A>C (p=0.159) and 67% of the patients carrying wt/c.94C>A (p=0.059). Presence of HCV RNA was not associated with ITPase activity.

Conclusion: This study is the first to report that ITPase activity predicts the development of anemia during ribavirin treatment. ITPase activity and ITPA genotype have high positive predictive values for protection against ribavirin-induced anemia for the entire course of treatment, but ITPase activity is a better pre-treatment parameter than ITPA genotype for ribavirin induced anemia.

68. Onderzoek naar IgE-gemedieerde voedselallergie

J.C.M. MEENHUIS, P.F.H. FRANCK

LabWest locatie HagaZiekenhuis, Den Haag

Inleiding: De meest voorkomende vorm van voedselovergevoeligheid is IgE-gemedieerde voedselallergie. Bij het eerste contact met voedselallergeen treedt sensibilisatie op en bij het tweede contact kunnen klinische klachten tot uiting komen, variërend van orale allergiesyndroom met geringe klachten in mond-keelgebied tot levensbedreigende anafylactische reacties. Serologische screeningsdiagnostiek van voedselallergie in het HagaZiekenhuis wordt gedaan op de analyser ImmunoCap van Thermo Fisher / Phadia. Dit gebeurt aan de hand van het voedselmengsel fx5 bestaande uit de allergenen kippenewit, koemelk, kabeljauw, pinda, soja en tarwe. Zij leiden tot de meest voorkomende sensibilisaties. Deze screening kan worden uitgebreid met een mengsel fx77 bestaande uit hazelnoot, cashewnoot, sesamzaad, kiwi en tomaat.

Methode: De bruikbaarheid van screenen met behulp van het allergenen-mengsel fx5 is onderzocht uit retrospectieve analyse van uitslagen binnen het LabWest / HagaZiekenhuis en navraag bij de aanvragers over de interpretatie van de uitslagen.

In het bijzonder voor huisartsen.

Resultaat: Ondanks dat de NHG-standaard bloedonderzoek naar voedselallergenen afraadt, was 65% van aanvragen afkomstig van huisartsen. Van deze aanvragen had 14% een positieve en 86% een negatieve uitslag. Het gebruik van fx5 is zinvol bij het uitsluiten van voedselallergie. Van de positieve fx5 uitslagen bleek bij uitsplitsing naar specifieke allergenen 36% singlesensibilisatie, 53% multisensibilisatie en 11% negatief te zijn. De interpretatie bij multisensibilisaties wordt als complex ervaren. Aanwezigheid van sIgE toont sensibilisatie aan maar hoeft niet te correleren met een klinisch relevante allergie.

Conclusie: Bij verdenking voedselintolerantie is het begeleiden van de aanvragen aan de hand van een anamnese gericht aanvraagformulier en interpretatie van de gevonden uitslagen zinvol. Het betrekken van gericht onderzoek naar afzonderlijke allergeen-componenten is hierop een goede aanvulling.

69. Wat is de meerwaarde van het standaard gebruik van een fx77 voedselpanel bij algemeen allergieonderzoek?

M. NIENS, J.D.E. van SUIJLEN, C. van KERKVOORDE, W.B.M. GERRITSEN, J.S. KAMPHUIS

Gelre Ziekenhuizen, Klinisch Chemisch Hematologisch Laboratorium, Apeldoorn en Zutphen

Inleiding: Bij verdenking op een voedselallergie wordt een zorgvuldige anamnese meestal gevolgd door laboratoriumdiagnostiek. Sinds januari 2012 zijn het bestaande voedselpanel en het kinderpanel (inhalatie + voedsel) uitgebreid met hazelnoot, cashewnoot, kiwi, sesamzaad en tomaat (voedselpanel fx77). Dit mede op advies van de gezondheidsraad. In deze studie is onderzocht welke meerwaarde de invoering van het fx77 voedselpanel in de praktijk heeft.

Methode: Allergie resultaten van 2012 en 2013, vanaf de invoering van het fx77 voedselpanel, zijn gescreend op aanwezigheid van fx77 met behulp van de ImmunoCap 250 (Thermofisher). Deze studie bevat 4331 patiënten, waarvan 983 op fx77 positief geteste sera nader zijn onderzocht naar reacties op de losse allergenen in het fx77 panel. Bij klinische patiënten met concentraties > 3,5 KU/l, wordt status onderzoek verricht naar de klinische relevantie van de fx77 bepaling.

Resultaat: Van de patiënten was 23% positief (n=983) voor fx77 (>0,35 KU/l). Na uitsplitsing in de groep met een concentratie >3,5 KU/l was 53,9% (n=543) positief voor hazelnoot en respectievelijk 8,9%, 7,9%, 5,8% en 4,2% positief voor sesamzaad, kiwi, cashew en tomaat. Van het totaal aantal uitgevoerde fx77 panels (4331) was 13% positief (conc. > 3,5 KU/l) voor hazelnoot; voor de andere antigenen varieerde dit van 1-2%. Status onderzoek wees uit dat gemiddeld 30% van de patiënten

hazelnoot gerelateerde klachten had.

Conclusie: Het gebruik van fx77 levert extra informatie op voor de detectie van hazelnoot sensibilisatie/ allergie. Het is discutabel of het opsporen van een klinisch relevante allergie voor sesamzaad, kiwi, cashew of tomaat middels gebruik van fx77 opweegt tegen de gemaakte kosten. Een goede anamnese en sterke verdenking rechtvaardigt specifieke analyse voor deze allergenen in plaats van gebruik van fx77.

Lever- en darmpathologie

70. Validation and clinical implementation of a commercial assay for (anti)infiximab in inflammatory bowel disease patients in a teaching hospital setting

M.A.C. BROEREN¹, A. WARMAN², L.J.J. DERIJKS²

Laboratorium voor klinische chemie en hematologie¹ en Apotheek², Máxima Medisch Centrum, Veldhoven

Introduction: Trough levels of infliximab (TLI) correlate with clinical outcome for infliximab (IFX) treatment in patients with Crohn's disease (CD) and ulcerative colitis (UC). IFX can induce an immunogenic response resulting in antibodies to IFX (ATI). ATI can result in a lower TLI and a reduced clinical outcome. Although TLI monitoring is advocated it is not routinely implemented in clinical practice. We conducted a prospective cohort study in our IBD-population treated with IFX and compared the results with a commercial assay.

Methods: From 110 CD and UC patients blood was drawn for TLI analysis. TLI and ATI were analyzed with a well established ELISA and RIA method (CLB Sanquin, The Netherlands). ATIs were determined in sera with IFX levels < 1 µg/ml. TLI and ATI were also analyzed with a commercial ELISA

assay (LISA TRACKER Premium, Theradiag, France) on a DSX ELISA workstation (Dynex Technologies, USA).

Results: IFX levels were found ranging from undetectable to 38.8 µg/ml. Nineteen patients (17.3%) showed a TLI < 1 µg/ml. ATIs were found in all patients with a TLI < 0.1 µg/ml. Correlation between the Sanquin and Theradiag assay for IFX was good (Spearman correlation = 0.95). The Theradiag anti-IFX assay correctly recognized all samples with ATIs.

Conclusion: A significant part of CU and CD patients in our cohort has suboptimal to undetectable TLI and detectable ATIs. The Theradiag assays are suitable for IFX and anti-IFX determination in IBD-outpatients. Preliminary results in our population indicate a correlation between TLI and clinical outcome.

Gynaecologie, obstetrie

71. High inter-individual variation in human milk (trace) mineral concentrations complicates estimations of the newborn (trace) mineral needs

E. STOUTJESDIJK¹, E.F. VOGELAAR², H. EBBELINK², A. SCHAAFMA³, D.A.J. DIJCK - BROUWER¹, F.A.J. MUSKIET¹

Laboratory Medicine¹, University Medical Center Groningen and University of Groningen, European Laboratory of Nutrition², Bunnik, Friesland Campina³, Leeuwarden

Background: WHO recommends exclusive breastfeeding for the first 6 postnatal months. Milk nutrient concentrations are independent of (protein, lactose), or dependent on (essential fatty acids, vitamins, essential minerals) (long term) maternal diet. Postnatal supplementation with vitamins K and D is considered necessary. This illustrates that the newborn's needs for many nutrients can only derive from milk of adequately nourished healthy mothers, which is a condition difficult to define. Relevant information may derive from nutrient variations in milks of mothers with clearly distinct diets. Here we focus on elements, their variations, and their interactions by investigating milk of Tanzanian and Dutch mothers.

Methods: Breast-milk from Tanzania-Ukerewe (U, n=17), Tanzania-Maasai (M, n=20) and The Netherlands (N, n=20) was analyzed for 32 elements, using ICP-MS.

Results: Median (range; CV_{total}) essential element concentrations

were (in mg/L): K 528 (411-703; 13%), Ca 258 (146-363; 17%), P 129 (43-192; 21%), Na 120 (52-599; 55%), Mg 33 (18-51; 21%) and Zn 1.3 (0.1-3.9; 60%); and (in microg/L): Br 730 (258-3521; 73%), Cu 251 (110-644; 46%), Fe 244 (61-826; 64%), I 82 (nd-805; 103%), Se 13.6 (6.8-33.3; 37%), Mn 5.7 (0.7-49.9; 107%) and Mo 1.1 (0.1-17.2; 128%). Between-group differences (p<0.016) were found for: P (M>N), Mg (N>U), Br (M>U and M>N), Cu (N>U and N>M), I (M>U and N>U), Se (M>U>N), Mn (M>N and U>N) and Mo (U>N). Many negative (p<0.0015) e.g. Br/Cu, Cu/Se, Cu/Mn and positive e.g. K/Mg, Ca/Mg, Ca/Cu, P/Br, P/Se, P/Mn, Br/Se, Br/Mn, Se/Mn relationships were found.

Conclusion: High inter-individual variation and interaction of (trace) minerals in human milk complicate estimations of the infant's needs.

Neurologie, psychiatrie, KNO, oogheekunde

72. De potentiële meerwaarde van procalcitonine in liquor cerebrospinalis en/of plasma bij de diagnostiek naar bacteriële meningitis

R. VERHEUL¹, M. ALONS², I. KUIPERS¹, K. JELLEMA², G. PONJEE¹

Klinische chemie¹, MC Haaglanden/LabWest en Neurologie², MC Haaglanden

Inleiding: Bacteriële meningitis is een ernstige aandoening met hoge morbiditeit en mortaliteit. De diagnose is echter kli-

nisch vaak moeilijk te stellen en de huidige liquor diagnostiek geeft soms ambivalente uitslagen. Zou met procalcitonine

(PCT) gedifferentieerd kunnen worden tussen bacteriële en virale meningitis, of afwezigheid van meningitis?

Methode: Gedurende één jaar zijn patiënten geïncludeerd waarbij sprake was van een bewezen bacteriële meningitis of virale meningitis. In de bacteriële meningitis groep zijn zowel patiënten met primaire als met secundaire bacteriële meningitis (na neurochirurgische interventie) geïncludeerd. Bij alle patiënten is PCT zowel in liquor (na lumbaalpunctie) als plasma bepaald. Er is tevens een controle groep (met een lumbaalpunctie in verband met andere neurologisch klachten) geïncludeerd waarbij PCT in liquor is bepaald.

Resultaat: Er zijn 11 patiënten met bacteriële meningitis geïncludeerd waarvan 5 primair en 6 secundair. Er zijn 10 patiënten met virale meningitis en 16 controle patiënten geïncludeerd. PCT in liquor van de bacteriële meningitis groep

bleek significant verhoogd wanneer vergeleken met de virale en controle groep ($0,44 \text{ SEM} \pm 0,14$ vs. $0,10 \pm \text{SEM } 0,01$; $P=0,036$ en $0,08 \text{ SEM} \pm 0,01$; $P=0,002$). PCT in liquor van de virale versus controle groep was niet significant verschillend ($P=0,149$). Er was geen significant verschil in PCT in liquor van de primaire en secundaire meningitis groep ($0,55 \text{ SEM} \pm 0,31$ vs. $0,36 \text{ SEM} \pm 0,15$; $P=0,213$). In plasma was PCT alleen verhoogd bij de vijf primaire bacteriële meningitiden (referentiewaarde $<0,1 \text{ ng/l}$; $6,04 \text{ SEM} \pm 4,96$).

Conclusie: PCT is significant verhoogd in liquor van patiënten met een bacteriële meningitis. Bij patiënten met meningitis na neurochirurgische interventie is PCT in liquor sterker verhoogd dan in plasma, mogelijk ten gevolge van een directe porte d'entree. Aanvullend onderzoek is echter nodig aangezien het een kleine groep betreft.

73. Discovery of biomarkers reflecting progression pathophysiology for relapse remitting and primary progressive MS subtypes by applying novel multiplex aptamer approach

A. MALEKZADEH¹, J. KILLESTEIN², C. TEUNISSEN¹

Department of Clinical Chemistry¹ and Department of Neurology², VU University Medical Center, Amsterdam, The Netherlands

Introduction: The patho-physiology of multiple sclerosis disease onset and progression remains undetermined. Understanding this is beneficial for prognosis, treatment strategies and for the development of new neuro-protective therapies. To unravel the patho-physiology of MS disease progression and possible identification of progression biomarkers, we performed proteomics on plasma proteins of patients with relapse-remitting MS (RRMS) with a benign disease course ($n=10$), very aggressive from onset RRMS ($n=10$) and primary progressive MS patients (PPMS) ($n=10$).

Methods: The proteomics was performed with aptamers by Somalogic, this assay detects 1129 blood biomarkers in a low volume of $65 \mu\text{l}$ of plasma. This method has been proven in

other studies for other diseases however it has not yet been applied for MS.

Results: We observed 50 proteins differentially expressed between benign RRMS and aggressive RRMS. A comparison between aggressive RRMS and PPMS showed the expression of 112 proteins altered significantly. Generally, these proteins can be divided into; immune receptors, inflammatory response, growth factors, cell signaling, blood coagulation, cell adhesion, matrix metalloproteinases and neuronal/hormone homeostasis

Conclusion: This exploratory phase has led to the identification different pathways and markers. Subsequent validations with the best discriminating biomarkers with customized aptamer assays on larger sample size is required and ongoing

Oncologie

74. N Latex FLC serum free light chain assays in patients with renal impairment

J.F.M. JACOBS¹, R.M.J. HOEDEMAKERS², E. TEUNISSEN³, H. te VELTHUIS³

Radboud university medical center, Department of Laboratory Medicine, Nijmegen, The Netherlands¹; Jeroen Bosch Hospital, Laboratory of Clinical Chemistry and Haematology, Den Bosch, The Netherlands²; Sanquin Blood Supply Foundation, Reagents Division, Amsterdam, The Netherlands³

Introduction: Monoclonal free light chains (FLCs) are important disease biomarkers in patients with plasma cell-proliferative disorders. The aim of this study was to establish ranges for N Latex FLC monoclonal-based nephelometric assays in patients with renal impairment.

Methods: In this retrospective study, serum samples from 284 patients with chronic kidney disease (CKD) stage 1-5 were measured with N Latex and Freelite™ FLC reagents on the Siemens BN™II system and compared to controls without renal impairment.

Results: Both κ FLC and λ FLC concentrations increased with the N Latex FLC and the Freelite™ assays with each increment in CKD stage. No difference was found in FLC κ concentrations between the two methods. In patients with renal failure N Latex FLC detected higher median concentrations of λ FLC (CKD5: 128 mg/L) compared to Freelite™ (90 mg/L)

($P<0,0001$). This resulted in significantly different κ/λ ratios in patients with CKD for the two tests. The median Freelite™ κ/λ ratio in the CKD5 group ($1,22$) was significantly increased compared to healthy controls ($P<0,0001$) and several individual samples were outside the reference range for healthy controls ($0,26 - 1,65$). In contrast, none of the 284 patients with CKD had an FLC κ/λ ratio exceeding the N Latex reference limits for healthy controls ($0,31 - 1,56$).

Conclusion: The N Latex FLC κ/λ ratio in patients with renal failure is not different from the reference limits for healthy controls. This finding in CKD patients marks a significant difference in performance between the two currently available FLC assays.

Literature: Jacobs, et al. N Latex FLC serum free light chain assays in patients with renal impairment. Clin ChemLab Med 2014, in press.

75. Het gebruik van een algoritme om bij a-symptomatische patiënten een M-proteïne op te sporen

Y. RAMAKERS-BAUR, M. CLAASSEN-LINSEN, M.T.M. RAIJMAKERS.

Atrium Medisch Centrum Parkstad, Klinisch Chemisch & Hematologisch Laboratorium, Heerlen

Inleiding: De aanwezigheid van een M-proteïne is een belangrijk criterium voor de diagnose van een multiple myeloom. Een multiple myeloom gaat niet altijd gepaard met klachten. Regelmatig wordt in een laat stadium gericht onderzoek (i.e. eiwit elektroforese) ingezet. Patiënten met een multiple myeloom laten echter ook een aantal biochemische afwijkingen zien. Deze zouden gebruikt kunnen worden om bij a-symptomatische personen screenend onderzoek in te zetten. In deze studie hebben we gekeken naar de meerwaarde van het toevoegen van een screenend M-proteïne onderzoek bij personen met dergelijke verdachte biochemische waarden.

Methode: In het LIS is een routine gebouwd om een werklijst op te bouwen. Op deze werklijst komen patiënten met een totaal eiwit > 88 g/l, eiwit-albumine verschil >45 g/l, calcium > 3,00 mmol/l, BSE >75 mm/uur met CRP <10 mg/l, een hypo- of hypergammaglobulinemie. De laboratoriumspecialist klinische chemie bepaald aan de hand van deze werklijst en

voorgaande uitslagen of een screenend M-proteïne onderzoek moet worden ingezet. Van alle toevoegingen is bijgehouden wat het resultaat was en of het advies voor follow-up onderzoek werd uitgevoerd.

Resultaat: In 3 jaar tijd is bij 481 personen een screenend M-proteïne onderzoek ingezet. In 138 (29%) van de monsters werd een M-proteïne gevonden. Hiervan lieten 43 (31%) monsters een zwak monokonaal bandje zien en bij 93 (68%) monster was een duidelijke monoklonale band aanwezig. In twee gevallen (1%) was er sprake van een oligoclonale gammopathie. Bij ongeveer de helft van de gevallen werd vervolgonderzoek ingezet.

Conclusie: Gebruik makende van een simpele LIS-routine hebben we bij ongeveer een derde van alle voor multiple myeloom verdachte labuitslagen een M-proteïne gevonden. Hiermee vinden we dat het screeningsprotocol zijn meerwaarde in de praktijk heeft bewezen.

76. Cytogenetics in myelodysplastic syndrome (MDS): a predictive model to promote appropriate laboratory testing

P.A.F. GEERTS¹, L.W. TICK², P.H.M. KUIJPER¹

Department of internal medicine² and Laboratory for Clinical Chemistry and Haematology¹, Máxima Medical Centre, Veldhoven, The Netherlands.

Introduction: Myelodysplastic syndrome (MDS) is a malignant disease of the bone marrow, in which one or more myeloid cell lineages show dysplasia. A number of specific risk factors are known, that can predict the prognosis (for example the IPSS risk score) or determine the treatment protocol. Here, cytogenetics are of important value. To assess cytogenetics in all patients is not necessary and expensive. A second bone marrow examination is a great burden to the patient. To more thoughtfully decide on beforehand whether cytogenetic examination should be performed directly at a first bone marrow examination, we intended to create a model to predict MDS in a patient.

Methods: We evaluated all bone marrow examinations in the period of August 2010 to February 2013, that were evaluated for MDS. We formulated a set of potential risk factors for MDS. These data were collected retrospectively and with

logistic regression analysis a predictive model was constructed.

Results: In 118 analyzed bone marrow examinations, MDS (n=16) or AML (n=7) were diagnosed in 23 patients (19%). Significant predictive factors were leukocytes <4.0*10⁹/l, neutrophil granulocytes <1.5*10⁹/l, thrombocytes <150*10⁹/l, MCV >100fl and RDW >14.5%. The best predictive model (neutrophil granulocytes <1.5*10⁹/l and RDW >14.5%) had a sensitivity of 58% and specificity of 91%. The positive predictive value was 65% and the negative predictive value 88%.

Conclusion: Our retrospective data showed that with two predictive factors, MDS in this study population can be ruled out with a 91% certainty. The sensitivity of 58% might also be of use considering a possible cost reduction. In the future, ideally, this model and the other evaluated possible risk factors should be validated prognostically.

Overigen

77. Cobalt analyse bij patiënten met metaal op metaal (MoM) prothese

M. BROER, H.J. WANSCHERS, R.G.H.J. MAATMAN

Medlon, Enschede

Inleiding: De metaal-op-metaal heupprothese met grote kop wordt ook wel 'sporthoup' genoemd, dankzij minder luxatie en meer bewegingsvrijheid. De heup kan echter metaalslijpsel loslaten, met als gevolg een lokale wekedelenreactie, 'aseptische lymfocytair vasculitis', ook wel 'pseudotumoren' genoemd. Revisieoperaties na pseudotumoren zijn lastiger en leiden vaker tot nieuwe revisieoperaties. Bij de follow up van patiënten met een MoM prothese worden onder andere cobalt en chroom in bloed geanalyseerd. Met name hoge concentraties cobalt kunnen met ernstige bijwerkingen gepaard gaan.

Methode: Cobalt en chroom analyse in bloed wordt standaard uitgevoerd met behulp van Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (ICP-MS).

Resultaat: Binnen het laboratorium werden ongeveer 1700 cobalt analyses uitgevoerd. Hierbij lieten 260 analyses een waarde zien boven 170 nmol/l, de door de Nederlandse vereniging voor orthopedie gestelde bovengrens voor revisie. Bij een 25-tal

van deze patiënten werden meerdere cobalt analyses verricht in de tijd. De toename in cobalt concentratie is variabel maar bij het merendeel gering.

Conclusie: Cobalt analyse bij de follow-up van patiënten met een MoM prothese laat een grote spreiding van kobalt concentraties zien en suggereren dat het slijtageproces bij het merendeel van de patiënten langzaam verloopt in de tijd.

Literatuur: Dijkman. Kobaltvergiftiging door metaal-op-metaalheupprothese. Ned Tijdschr Geneesk. 2012;156:A4983. Verhaar. De harde les van metaal-op-metaalheupprothesen. Ned Tijdschr Geneesk. 2012;156:A5564.